

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 657 839**

51 Int. Cl.:

C07D 487/04 (2006.01)

C07D 403/12 (2006.01)

A61K 31/437 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **02.07.2010 PCT/US2010/040906**

87 Fecha y número de publicación internacional: **06.01.2011 WO11003065**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.07.2010 E 10794815 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.11.2017 EP 2448941**

54 Título: **Compuestos de pirazolopirimidina inhibidores de JAK y métodos**

30 Prioridad:

02.07.2009 US 222918 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
07.03.2018

73 Titular/es:

**GENENTECH, INC. (100.0%)
1 DNA Way
South San Francisco, CA 94080, US**

72 Inventor/es:

**GIBBONS, PAUL;
HANAN, EMILY;
LIU, WENDY;
LYSSIKATOS, JOSEPH P.;
MAGNUSON, STEVEN R.;
MENDONCA, ROHAN;
PASTOR, RICHARD;
RAWSON, THOMAS E.;
SIU, MICHAEL;
ZAK, MARK E.;
ZHOU, AIHE;
ZHU, BING-YAN y
HURLEY, CHRISTOPHER**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 657 839 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Compuestos de pirazolopirimidina inhibidores de JAK y métodos

5 Campo de la invención

Los compuestos de pirazolopirimidina de la reivindicación 1, que son inhibidores de una o más cinasas Janus, así como composiciones que contienen estos compuestos y métodos de uso, incluyendo, pero sin limitaciones, diagnóstico o tratamiento in vitro de células de mamíferos.

10 Antecedentes de la invención

Las rutas de citocinas median una amplia diversidad de funciones biológicas, que incluyen numerosos aspectos de inflamación e inmunidad. Janus cinasas (JAK), incluyendo JAK1, JAK2, JAK3 TYK2 son proteína cinasas citoplasmáticas que se asocian a receptores de citocina de tipo I y de tipo II y regulan la transducción de señal de las citocinas. La implicación de las citocinas con los receptores correspondientes desencadena la activación de las JAK asociadas a receptores y esto conduce a la fosforilación de tirosina mediada por JAK del transductor de señal y a la activación de proteínas de transcripción (STAT) y, finalmente, a la activación de la transcripción del conjunto de genes específicos (Schindler y col., 2007, J Biol. Chem. 282:20059-63). JAK1, JAK2 y TYK2 exhiben amplios patrones de expresión génica, mientras que la expresión de JAK3 está limitada a los leucocitos. Por lo general, los receptores de citocinas son funcionales en forma de heterodímeros y, en consecuencia, más de un tipo de cinasa JAK está habitualmente asociada a los complejos del receptor de citocina. Las JAK específicas asociadas a diferentes complejos del receptor de citocina se han determinado en numerosos casos a través de estudios genéticos y corroborado mediante otras evidencias experimentales.

La JAK1 se identificó inicialmente en un análisis sistemático de nuevas cinasas ((Wilks A. F., 1989, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 86:1603-1607). Estudios genéticos y bioquímicos han mostrado que JAK1 está funcional y físicamente asociada al interferón de tipo I (por ejemplo, IFN-alfa), al interferón de tipo II (por ejemplo, IFN-gamma), y a los complejos del receptor de citocina IL-2 e IL-6 (Kisseleva y col., 2002, gene 285:1-24; Levy y col., 2005, Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 3:651-662; O'Shea y col., 2002, Cell, 109 (suppl.): S121-S131). Los ratones defectivos en JAK1 mueren perinatalmente debido a defectos en la señalización del receptor de LIF (Kisseleva y col., 2002, gene 285:1-24; O'Shea y col., 2002, Cell, 109 (suppl.): S121-S131). La caracterización de los tejidos derivados de ratones defectivos en JAK1 demostró funciones principales de esta cinasa en las rutas de IFN, IL-10, IL-2/IL-4 e IL-6. La Comisión Europea ha aprobado recientemente un anticuerpo monoclonal humanizado dirigido a la ruta de IL-6 (tocilizumab) para el tratamiento de la artritis reumatoide de moderada a grave (Scheinecker y col., 2009, Nat. Rev. Drug Discov. 8:273-274).

Los estudios bioquímicos y genéticos han demostrado una asociación entre JAK2 y las familias de receptores de citocinas de cadena única (por ejemplo, EPO), IL-3 e interferón gamma (Kisseleva y col., 2002, gene 285:1-24; Levy y col., 2005, Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 3:651-662; O'Shea y col., 2002, Cell, 109 (suppl.): S121-S131). De acuerdo con esto, los ratones defectivos en JAK2 mueren de anemia (O'Shea y col., 2002, Cell, 109 (suppl.): S121-S131). Las mutaciones activadoras de cinasas en JAK2 (por ejemplo, JAK2 V617F) están asociadas con trastornos mieloproliferativos (TMP) en seres humanos.

JAK3 se asocia exclusivamente con la cadena común gamma del receptor de citocinas, que está presente en los complejos del receptor de las citocinas IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15 e IL-21. JAK3 es crucial para el desarrollo y la proliferación de células linfoides y las mutaciones en JAK3 dan como resultado inmunodeficiencia combinada grave (SCID) (O'Shea y col., 2002, Cell, 109 (suppl.): S121-S131). Basándose en su papel en la regulación de linfocitos, JAK3 y las rutas mediadas por JAK3 se han establecido como diana para indicaciones inmunosupresoras (por ejemplo, rechazo al trasplante y artritis reumatoide) (Baslund y col., 2005, Arthritis & Rheumatism 52:2686-2692; Changelian y col., 2003, Science 302:875-878).

TYK2 se asocia con el interferón de tipo I (por ejemplo, IFN-alfa), y los complejos del receptor de las citocinas IL-6, IL-10, IL-12 e IL-23 (Kisseleva y col., 2002, gene 285:1-24; Watford, W. T. y O'Shea, J. J., 2006, Immunity 25:695-697). De acuerdo con esto, las células primarias derivadas de un ser humano deficiente en TYK2 son deficientes en la señalización de interferón de tipo I, IL-6, IL-10, IL-12 e IL-23. La Comisión Europea ha aprobado recientemente un anticuerpo monoclonal completamente humano dirigido a la subunidad compartida p40 de las citocinas IL-12 e IL-23 (ustekinumab) para el tratamiento de la psoriasis en placas de moderada a grave (Krueger y col., 2007, N. Engl. J. Med. 356:580-92; Reich y col., 2009, Nat. Rev. Drug Discov. 8:355-356). Además, se ha sometido a ensayos clínicos un anticuerpo dirigido a las rutas de IL-12 e IL-23 para el tratamiento de la enfermedad de Crohn (Mannon y col., 2004, N. Engl. J. Med. 351:2069-79).

Sumario de la invención

Una realización incluye un compuesto seleccionado entre:

- 5 N-(4-(5-cloro-2-metoxifenil)-2-(2-hidroxi-2-metilpropil)tiazol-5-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida;
 N-(4-(5-cloro-2-metoxifenil)-2-(2-metilprop-1-enil)tiazol-5-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida; N-(2-bromo-4-(5-cloro-2-metoxifenil)tiazol-5-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida; N-(4-(5-cloro-2-metoxifenil)tiazol-5-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida;
 10 N-(4-(5-cloro-2-metoxifenil)-2-metiltiazol-5-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida;
 N-(4-(5-cloro-2-metoxifenil)-2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)tiazol-5-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida;

o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

- 15 Otra realización incluye una composición farmacéutica que incluye un compuesto de la reivindicación 1 y un excipiente, adyuvante o vehículo farmacéuticamente aceptables.

- 20 Otra realización incluye un compuesto de la reivindicación 1 para su uso en un la prevención, tratamiento o disminución de la gravedad de una enfermedad o afección, como se define en la reivindicación 4, que es sensible a la inhibición de la actividad de una cinasa JAK en un paciente. En una realización, una Janus cinasa se selecciona de JAK1, JAK2, JAK3 y TYK2, en un paciente.

Otra realización incluye un compuesto de la reivindicación 1 para su uso en terapia.

- 25 Otra realización incluye un compuesto de la reivindicación 1 para uso en la prevención, tratamiento o disminución de la gravedad de una enfermedad tal como se define en las reivindicaciones. En una realización, la enfermedad es una enfermedad autoinmune.

Descripción detallada de la invención

- 30 Ahora se hará referencia en detalle a determinadas realizaciones, cuyos ejemplos se ilustran en las estructuras y fórmulas adjuntas. Aunque la invención se describirá junto con las realizaciones enumeradas, se pretende que la invención cubra todas las alternativas, que pueden incluirse en el alcance de la presente invención tal como se define en las reivindicaciones. El experto en la técnica reconocerá muchos métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en el presente documento, que podrán utilizarse en la práctica de la presente invención.

- 35 "Tratar" y "tratamiento" incluye tanto el tratamiento terapéutico como las medidas profilácticas y/o preventivas, cuyo objeto es prevenir o ralentizar (disminuir) un cambio o trastorno fisiológico indeseado, como el desarrollo o proliferación del cáncer. Para los fines de esta invención, los beneficios o resultados clínicos deseados incluyen, pero sin limitación, alivio de síntomas, disminución de la extensión de una enfermedad, patología estabilizada (es decir, sin empeoramiento), retraso o ralentización en la evolución de la enfermedad, mejora o paliación de la patología, y remisión (tanto parcial como total), ya sea detectable o indetectable. "Tratamiento" también puede significar prolongar la supervivencia en comparación con la supervivencia esperada si no se recibiera tratamiento. Aquellos que necesitan tratamiento incluyen aquellos que ya padecen la afección o trastorno así como aquellos propensos a tener la afección o trastorno (por ejemplo, a través de una mutación genética) o aquellos en los que se ha de prevenir la afección o trastorno.

- 50 La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" significa una cantidad de un compuesto de la presente invención que (i) trata o previene la enfermedad, afección o trastorno en particular, (ii) atenúa, mejora o elimina uno o más síntomas de la enfermedad, afección o trastorno concreto o (iii) previene o retrasa el inicio de uno o más síntomas de la enfermedad, afección o trastorno concreto descrito en el presente documento. En el caso del cáncer, la cantidad terapéuticamente eficaz del fármaco puede reducir el número de células cancerosas; reducir el tamaño del tumor; inhibir (es decir, ralentizar hasta cierto punto y preferentemente detener) la infiltración de células cancerosas en los órganos periféricos; inhibir (es decir, ralentizar hasta cierto punto y preferentemente detener) la metástasis tumoral; inhibir, hasta cierto punto, el crecimiento tumoral; y/o aliviar hasta cierto punto uno o más de los síntomas asociados con el cáncer. En la medida en que el fármaco puede evitar el crecimiento y/o destruir las células cancerosas existentes, puede ser citostático y/o citotóxico. Para el tratamiento del cáncer, la eficacia, por ejemplo, puede medirse evaluando el tiempo de progresión de la enfermedad (TTP) y/o mediante la determinación de la tasa de respuesta (RR).

- 60 "Trastorno inflamatorio", tal como se usa en el presente documento, puede hacer referencia a cualquier enfermedad, trastorno o síndrome en el que una respuesta inflamatoria excesiva o no regulada conduce a síntomas inflamatorios excesivos, daño tisular del huésped o pérdida de la función del tejido. El "trastorno inflamatorio" también se refiere a un estado patológico mediado por la afluencia de leucocitos y/o quimiotaxis de neutrófilos.

- 65 "Inflamación", tal como se usa en el presente documento, se refiere a una respuesta protectora localizada provocada por lesión o destrucción de tejidos, que sirve para destruir, diluir o aislar (secuestrar) tanto el agente perjudicial como

el tejido lesionado. La inflamación se asocia notablemente con la afluencia de leucocitos y/o quimiotaxis de neutrófilos. La inflamación puede ser el resultado de la infección con organismos patógenos y virus y de medios no infecciosos, como traumatismo o reperfusión después de infarto de miocardio o accidente cerebrovascular, respuesta inmune a un antígeno extraño y respuestas autoinmunes. Por consiguiente, los trastornos inflamatorios susceptibles de tratamiento con compuestos de Fórmula I comprenden trastornos asociados con reacciones del sistema de defensa específico, así como con reacciones del sistema de defensa no específico.

El "sistema de defensa específico" se refiere al componente del sistema inmunológico que reacciona ante la presencia de antígenos específicos. Los ejemplos de inflamación que son el resultado de una respuesta del sistema de defensa específico incluyen la respuesta clásica a antígenos extraños, enfermedades autoinmunes y respuesta de hipersensibilidad de tipo retardado mediada por linfocitos T. Las enfermedades inflamatorias crónicas, el rechazo de tejidos y órganos trasplantados sólidos, por ejemplo, trasplantes de riñón y médula ósea, y enfermedad de injerto contra huésped (EICH), son ejemplos adicionales de reacciones inflamatorias del sistema de defensa específico.

La expresión "sistema de defensa no específico", tal como se usa en el presente documento, se refiere a trastornos inflamatorios que están mediados por leucocitos que son incapaces de memoria inmunológica (por ejemplo, granulocitos y macrófagos). Los ejemplos de inflamación que son el resultado, al menos en parte, de una reacción del sistema de defensa no específico incluyen inflamación asociada con afecciones tales como síndrome de dificultad respiratoria (SDRA) en adultos o síndromes de lesión orgánica múltiple; lesión por reperfusión; glomerulonefritis aguda; artritis reactiva; dermatosis con componentes inflamatorios agudos; meningitis purulenta aguda u otros trastornos inflamatorios del sistema nervioso central, tales como accidente cerebrovascular; lesión térmica; enfermedad inflamatoria del intestino; síndromes asociados a transfusión de granulocitos; y toxicidad inducida por citocinas.

"Enfermedad autoinmune", tal como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier grupo de trastornos en los que la lesión tisular está asociada con respuestas humorales o mediadas por células a los propios constituyentes del cuerpo.

"Enfermedad alérgica", tal como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier síntoma, daño tisular o pérdida de la función del tejido resultante de la alergia. "Enfermedad artrítica", tal como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier enfermedad que se caracteriza por lesiones inflamatorias de las articulaciones atribuibles a diversas etiologías. "Dermatitis", tal como se usa en el presente documento, se refiere a cualquiera de una gran familia de enfermedades de la piel que se caracterizan por la inflamación de la piel atribuible a diversas etiologías. "Rechazo de trasplante", tal como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier reacción inmune dirigida contra tejido injertado, tales como órganos o células (por ejemplo, médula ósea), caracterizada por una pérdida de función de los tejidos injertados y circundantes, dolor, hinchazón, leucocitosis y trombocitopenia. Los métodos terapéuticos de la presente invención incluyen métodos para el tratamiento de trastornos asociados con la activación celular inflamatoria.

"Activación de células inflamatorias" se refiere a la inducción por un estímulo (que incluye, pero no se limita a, citocinas, antígenos o autoanticuerpos) de una respuesta celular proliferativa, la producción de mediadores solubles (que incluyen, pero no se limitan a, citocinas, radicales de oxígeno, enzimas, prostanoïdes o aminos vasoactivas), o la expresión en la superficie celular de un número nuevo o aumentado de mediadores (que incluyen, pero no se limitan a, antígenos de histocompatibilidad mayor o moléculas de adhesión celular) en células inflamatorias (que incluyen, pero no se limitan a, monocitos, macrófagos, linfocitos T, linfocitos B, granulocitos (es decir, leucocitos polimorfonucleares, tales como neutrófilos, basófilos y eosinófilos), mastocitos, células dendríticas, células de Langerhans y células endoteliales). Los expertos en la técnica apreciarán que la activación de uno o una combinación de estos fenotipos en estas células puede contribuir a la iniciación, perpetuación o exacerbación de un trastorno inflamatorio.

El término "AINE" es un acrónimo de "fármaco antiinflamatorio no esteroideo" y es un agente terapéutico con efectos analgésicos, antipiréticos (que reduce la temperatura corporal elevada y alivia el dolor sin afectar a la conciencia) y, a dosis más altas, antiinflamatorios (reducción de la inflamación). El término "no esteroideo" se usa para distinguir estos fármacos de los esteroides, que (entre una amplia gama de otros efectos) tienen una acción antiinflamatoria similar a la de los eicosanoides depresores. Como analgésicos, los AINE son inusuales porque no son narcóticos. Entre los AINE se incluyen la aspirina, el ibuprofeno y el naproxeno. Los AINE generalmente están indicados para el tratamiento de afecciones agudas o crónicas en las que hay presencia de dolor e inflamación. Los AINE generalmente están indicados para el alivio sintomático de las siguientes afecciones: artritis reumatoide, artrosis, artropatías inflamatorias (por ejemplo, espondilitis anquilosante, artritis psoriásica, síndrome de Reiter, gota aguda, dismenorrea, dolor óseo metastásico, dolor de cabeza y migraña, dolor postoperatorio, dolor leve a moderado debido a inflamación y lesión tisular, pirexia, íleo y cólico renal. La mayoría de los AINE actúa como inhibidores no selectivos de la enzima ciclooxigenasa, inhibiendo tanto las isoenzimas ciclooxigenasa-1 (COX-1) y ciclooxigenasa-2 (COX-2). La ciclooxigenasa cataliza la formación de prostaglandinas y tromboxano a partir del ácido araquidónico (derivado a su vez de la bicapa de fosfolípidos celulares mediante la fosfolipasa A2). Las prostaglandinas actúan (entre otras cosas) como moléculas mensajeras en el proceso de inflamación. Los inhibidores de la COX-2 incluyen celecoxib, etoricoxib, lumiracoxib, parecoxib, rofecoxib, rofecoxib y valdecoxib.

Los términos "cáncer" y "canceroso" se refieren o describen la afección fisiológica en mamíferos que se caracteriza normalmente por un crecimiento celular no regulado. Un "tumor" comprende una o más células cancerosas. Los ejemplos de cáncer incluyen, pero sin limitación, carcinoma, linfoma, blastoma, sarcoma y leucemia o tumores malignos linfoides. Entre los ejemplos más particulares de tales cánceres incluyen cáncer de células escamosas (por ejemplo, cáncer de células escamosas epiteliales), cáncer de pulmón incluyendo cáncer de pulmón microcítico, cáncer de pulmón no microcítico ("CPNM"), adenocarcinoma del pulmón y carcinoma escamoso de pulmón, cáncer de peritoneo, cáncer hepatocelular, cáncer gástrico o de estómago incluyendo cáncer gastrointestinal, cáncer de páncreas, glioblastoma, cáncer de cuello de útero, cáncer de ovarios, cáncer de hígado, cáncer de vejiga, hepatoma, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer de recto, cáncer colorrectal, carcinoma de endometrio o uterino, carcinoma de las glándulas salivales, cáncer de riñón o renal, cáncer de próstata, cáncer de vulva, cáncer de tiroides, carcinoma hepático, carcinoma anal, carcinoma del pene, así como cáncer de cabeza y cuello.

Un "agente quimioterapéutico" es un compuesto químico útil en el tratamiento del cáncer. Ejemplos de agentes quimioterapéuticos incluyen Erlotinib (TARCEVA®, Genentech, Inc. /OSI Pharm.), Trastuzumab (HERCEPTIN®, Genentech, Inc.); bevacizumab (AVASTIN®, Genentech, Inc.); Rituximab (RITUXAN®, Genentech, Inc. /Biogen Idec, Inc.), Bortezomib (VELCADE®, Millennium Pharm.), Fulvestrant (FASLODEX®, AstraZeneca), Sutent (SU11248, Pfizer), letrozol (FEMARA®, Novartis), mesilato de imatinib (GLEEVEC®, Novartis), PTK787/ZK 222584 (Novartis), oxaliplatino (Eloxatin®, Sanofi), 5-FU (5-fluorouracilo), leucovorina, rapamicina (sirolimus, GLEEVEC®, Wyeth), lapatinib (GSK572016, Glaxo Smith Kline), Isonafarnib (SCH 66336), sorafenib (BAY43-9006, Bayer Labs) y gefitinib (IRESSA®, AstraZeneca), AG1478, AG1571 (SU 5271; Sugen), agentes alquilantes tales como tiotepa y ciclofosfamida CYTOXAN®; alquil sulfonatos tales como busulfán, improsulfán y piposulfán; aziridinas tales como benzodopa, carbocuna, meturedopa y uredopa; etileniminas y metilmelaminas incluyendo altretamina, trietilenmelamina, trietilenfosforamida, trietilentiofosforamida y trimetilolomelamina; acetogeninas (especialmente bullatacina y bullatacinona); una camptotecina (incluyendo el análogo sintético topotecán); briostatina; calistatina; CC-1065 (incluyendo sus análogos sintéticos de adozelesina, carzelesina y bizelesina); criptoficinas (particularmente criptoficina 1 y criptoficina 8); dolastatina; duocarmicina (incluyendo los análogos sintéticos, KW-2189 y CB1-TM1); eleuterobina; pancratistatina; una sarcodictina; espongistatina; mostazas de nitrógeno tales como clorambucilo, clornafazina, colofosfamida, estramustina, ifosfamida, mecloretamina, clorhidrato de óxido de mecloretamina, melfalán, novembiquina, fenesterina, prednimustina, trofosfamida, mostaza de uracilo; nitrosoureas, tales como carmustina, clorozotocina, fotemustina, lomustina, nimustina y ranimustina; antibióticos tales como los antibióticos de enediina (por ejemplo, caliqueamicina, especialmente calicheamicina gamma 1I y calicheamicina omega 1I (Angew Chem. Intl. Ed. Engl. (1994) 33:183-186); dinemicina, incluyendo dinemicina A; bisfosfonatos, tales como clodronato; una esperamicina; así como cromóforo de neocarzinostatina y cromóforos de antibióticos de enediina relacionados con cromoproteína, aclacinomisinas, actinomicina, autramicina, azaserina, bleomicinas, cactinomicina, carabicina, carminomicina, carcinofilina, cromomicinas, dactinomicina, daunorrubicina, detorrubicina, 6-diazo-5-oxo-L-norleucina, ADRIAMYCIN® (doxorubicina), morfolino-doxorrubicina, cianomorfolino-doxorrubicina, 2-pirrolino-doxorrubicina y desoxidoxorrubicina), epirubicina, esorubicina, idarrubicina, marcelomicina, mitomicinas tales como mitomicina C, ácido micofenólico, nogalamicina, olivomicinas, peplomicina, potfiomicina, puomicina, quelamicina, rodorrubicina, estreptonigrina, estreptozocina, tubercidina, ubenimex, zinostatina, zorubicina; anti-metabolitos tales como metotrexato y 5-fluorouracilo (5-FU); análogos del ácido fólico, tales como denopterina, metotrexato, pteropterina, trimetrexato; análogos de purina tales como fludarabina, 6-mercaptopurina, tiamiprina, tioguanina; análogos de pirimidina tales como ancitabina, azacitidina, 6-azauridina, carmofur, citarabina, didesoxiuridina, doxifluridina, enocitabina, floxuridina; andrógenos tales como calusterona, propionato de dromostanolona, epitostanol, mepitostana, testolactona; antiadrenales, tales como aminoglutetimida, mitotano, trilostano; reabastecedor del ácido fólico tal como ácido frolínico; aceglatona; glucósido de aldofosfamida; ácido aminolevulínico; eniluracilo; amsacrina; bestrabucilo; bisantreno; edatraxato; defofamina; demecolcina; diazicuona; elfornitina; acetato de eliptinio; una epotilona; etoglúcido; nitrato de galio; hidroxurea; lentinan; lonidainina; maitansinoides tales como maitansina y ansamitocinas; mitoguazona; mitoxantrona; mopidanmol; nitraerina; pentostatina; fenamet; pirarubicina; losoxantrona; ácido podofilínico; 2-etilhidracida; procarbazona; complejo de polisacárido PSK® (JHS Natural Products, Eugene, OR); razoxana; rizoxina; sizofiran; espirogermanio; ácido tenuazónico; triazicuona; 2,2',2"-trichlorotrietilamina; tricotecenos (especialmente toxina T-2, verracurina A, roridina A y anguidina); uretano; vindesina; dacarbazina; manomustina; mitobronitol; mitolactol; pipobromano; gacitosina; arabinósido ("Ara-C"); ciclofosfamida; tiotepa; taxoides, por ejemplo, TAXOL® (paclitaxel; Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N. J.), ABRAXANE® (exento de Cremofor), formulaciones de nanopartículas de paclitaxel diseñadas con albúmina (American Pharmaceutical Partners, Schaumburg, Illinois) y TAXOTERE® (doxetaxel; Rhône-Poulenc Rorer, Antony, Francia); clorambucilo; GEMZAR® (gemcitabina); 6-tioguanina; mercaptopurina; metotrexato; análogos de platino tales como cisplatino y carboplatino; vinblastina; etopósido (VP-16); ifosfamida; mitoxantrona; vincristina; NAVELBINE® (vinorelbina); novantrona; tenipósido; edatrexato; daunomicina; aminopterina; xeloda; ibandronato; CPT-11; inhibidor de la topoisomerasa RFS 2000; difluorometilornitina (DMFO); retinoides tales como ácido retinoico; capecitabina; y sales farmacéuticamente aceptables, ácidos y derivados de cualquiera de los anteriores.

También se incluye en la definición de "agente quimioterapéutico": (i) agentes antihormonales que actúan regulando o inhibiendo la acción de hormonas en tumores, tales como antiestrógenos y moduladores selectivos de los receptores de estrógenos (SERM), incluyendo, por ejemplo, tamoxifeno (incluyendo NOLVADEX®; citrato de tamoxifeno), raloxifeno, droloxifeno, 4-hidroxitamoxifeno, trioxifeno, keoxifeno, LY117018, onapristona y

FARESTON® (citrato de toremifina); (ii) inhibidores de la aromatasa que inhiben la enzima aromatasa, que regula la producción de estrógenos en las glándulas suprarrenales, tales como, por ejemplo, 4(5)-imidazoles, aminoglutetimida, MEGASE® (acetato de megestrol), AROMASIN® (exemestano; Pfizer), Pfizer), formestano, fadrozol, RIVISOR® (vorozol), FEMARA® (letrozol; Novartis) y ARIMIDEX® (anastrozol; AstraZeneca); (iii) antiandrógenos tales como flutamida, nilutamida, bicalutamida, leuprolida, y goserelina; así como troxacitabina (un análogo nucleosídico de 1,3-dioxolano citosina); (iv) inhibidores de la proteína cinasa; (v) inhibidores de la lípido cinasa; (vi) oligonucleótidos antisentido, particularmente, los que inhiben la expresión de genes en rutas de señalización implicadas en proliferación celular anómala, tales como, por ejemplo, PKC-alfa, Raf y H-Ras; (vii) ribozimas tales como inhibidores de VEGF (por ejemplo, ANGIOZYME®) y (viii) vacunas, tales como vacunas de terapia génica, por ejemplo, ALLOVECTIN®, LEUVECTIN® y VAXID®; PROLEUKIN® rIL-2; un inhibidor de la topoisomerasa 1, tal como LURTOTECAN®; ABARELIX® rmRH; (ix) agentes antiangiogénicos; y (x) sales farmacéuticamente aceptables, ácidos y derivados de cualquiera de los anteriores.

Los anticuerpos monoclonales con potencial terapéutico como agentes en combinación con los inhibidores de la Janus cinasa de la invención incluyen: adalimumab, etanercept, infliximab, alemtuzumab, apolizumab, aselizumab, atlizumab, bapineuzumab, bevacizumab, bivatuzumab mertansina, cantuzumab mertansina, cedelizumab, certolizumab pegol, cidfusituzumab, cidtuzumab, daclizumab, eculizumab, efalizumab, epratuzumab, erlizumab, felvizumab, fontolizumab, gemtuzumab ozogamicina, inotuzumab ozogamicina, ipilimumab, labetuzumab, lintuzumab, matuzumab, mepolizumab, motavizumab, motovizumab, natalizumab, nimotuzumab, nolovizumab, numavizumab, ocrelizumab, omalizumab, palivizumab, pascolizumab, pecfusituzumab, pectuzumab, pertuzumab, pexelizumab, ralvizumab, ranibizumab, reslivizumab, reslizumab, resivizumab, rovelizumab, ruplizumab, sibrotuzumab, sipilizumab, sontuzumab, tacatuzumab tetraxetán, tadocizumab, talizumab, tefibazumab, tocilizumab, toralizumab, trastuzumab, tucotuzumab celmoleucina, tucusituzumab, umavizumab, urtoxazumab, ustekinumab, visilizumab y la anti-interleucina-12 (ABT-874/J695, Wyeth Research and Abbott Laboratories), que es un anticuerpo IgG₁ de longitud completa recombinante de secuencia exclusivamente humana modificado genéticamente para reconocer proteína p40 de interleucina-12.

"Liposoma" se refiere a una vesícula compuesta por uno o más lípidos, fosfolípidos y/o tensioactivos, que es útil para el suministro de un fármaco a un mamífero. Los componentes del liposoma pueden estar en una formación de bicapa, similar a la disposición lipídica de las membranas biológicas.

El término "prospecto" se usa para referirse a instrucciones habitualmente incluidas en los envases comerciales de productos terapéuticos, que contienen información sobre las indicaciones, el uso, la dosificación, la administración, las contraindicaciones y/o las advertencias en referencia al uso de tales productos terapéuticos.

La expresión "sal farmacéuticamente aceptable", tal como se usa en el presente documento, se refiere a sales orgánicas o inorgánicas farmacéuticamente aceptables de un compuesto de la reivindicación 1. Las sales ilustrativas incluyen, pero sin limitación, sales de sulfato, citrato, derivados de acetato, oxalato, cloruro, bromuro, yoduro, nitrato, bisulfato, fosfato, fosfato ácido, isonicotinato, lactato, salicilato, citrato ácido, tartrato, oleato, tanato, pantotenato, bitartrato, ascorbato, succinato, maleato, gentisinato, fumarato, gluconato, glucuronato, sacarato, formiato, benzoato, glutamato, metanosulfonato, etanosulfonato, bencenosulfonato, *p*-toluenosulfonato y pamoato (es decir, 1,1'-metileno-bis-(2-hidrox-3-naftoato)). Una sal farmacéuticamente aceptable puede implicar la inclusión de otra molécula tal como un ion acetato, un ion succinato u otro contraión. El contraión puede ser cualquier resto orgánico o inorgánico que estabiliza la carga en el compuesto precursor. Además, una sal farmacéuticamente aceptable puede tener más de un átomo cargado en su estructura. Los casos en los que múltiples átomos cargados son parte de la sal farmacéuticamente aceptable pueden tener múltiples contraiones. Por tanto, una sal farmacéuticamente aceptable puede tener uno o más átomos cargados y/o uno o más contraiones.

Un "solvato" se refiere a una asociación o complejo de una o más moléculas de disolvente y un compuesto de la reivindicación 1. Los ejemplos de disolventes que forman solvatos incluyen, pero sin limitación, agua, isopropanol, etanol, metanol, DMSO, acetato de etilo, ácido acético y etanolamina. El término "hidrato" se refiere al complejo en el que la molécula disolvente es agua.

El término "paciente" incluye pacientes humanos y pacientes animales. El término "animal" incluye animales de compañía (por ejemplo, perros, gatos y caballos), animales fuentes de alimento, animales de zoo, animales marinos, pájaros y otras especies animales similares.

La frase "farmacéuticamente aceptable" indica que la sustancia o composición debe ser compatible química y/o toxicológicamente con los otros ingredientes que comprenden una formulación y/o el mamífero que se está tratando con la misma.

Los términos "JAK cinasa" y "janus cinasa" hacen referencia a las proteínas cinasas JAK1, JAK2, JAK3 y TYK2.

Las expresiones "compuesto de esta invención" y "compuestos de la presente invención" y "compuestos de la reivindicación 1", a menos que se indique lo contrario, incluyen compuestos de la reivindicación 1 y sales (por ejemplo, sales farmacéuticamente aceptables) de los mismos. A menos que se indique otra cosa, las estructuras

representadas en el presente documento también pretenden incluir compuestos que difieren únicamente en la presencia de uno o más átomos enriquecidos isotópicamente. Por ejemplo, los compuestos de la reivindicación 1 en los que uno o más átomos de hidrógeno están reemplazados por deuterio o tritio, o uno o más átomos de carbono están reemplazados por un carbono enriquecido con ^{13}C o ^{14}C están dentro del ámbito de la presente invención.

COMPUESTOS DE PIRAZOLOPIRIMIDINA INHIBIDORES DE JANUS CINASA

En una realización, se proporcionan un compuesto de la reivindicación 1 y formulaciones farmacéuticas del mismo, que son útiles en el tratamiento de enfermedades, afecciones y/o trastornos sensibles a la inhibición de una o más Janus cinasas.

Otra realización incluye un compuesto de la reivindicación 1 que tiene K_i y/o CE_{50} que es al menos 15 veces, COMO alternativa 10 veces, o 5 veces o más selectivo en la inhibición de la actividad de una Janus cinasa sobre la inhibición de una o más de las otras actividades de Janus cinasa.

Los compuestos de la presente invención pueden existir en formas sin solvatar, así como solvatadas con disolventes farmacéuticamente aceptables, tales como agua, etanol y similares, y se pretende que la invención, según se define mediante las reivindicaciones, abarcan formas tanto solvatadas como sin solvatar.

La presente invención también abarca compuestos marcados isotópicamente de la reivindicación 1, que son idénticos a los enumerados en el presente documento, salvo por el hecho de que uno o más átomos están reemplazados por un átomo que tiene una masa atómica o número másico diferente de la masa atómica o número másico que se encuentra habitualmente en la naturaleza. Todos los isótopos de cualquier átomo o elemento particular según se especifican se incluyen dentro del ámbito de la invención. Los isótopos a modo de ejemplo que pueden incorporarse en compuestos de Fórmula I incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, azufre, flúor, cloro y yodo, tales como ^2H , ^3H , ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{13}N , ^{15}N , ^{15}O , ^{17}O , ^{18}O , ^{32}P , ^{33}P , ^{35}S , ^{18}F , ^{36}Cl , ^{123}I y ^{125}I , respectivamente. Determinados compuestos marcados isotópicamente de Fórmula I (por ejemplo, aquellos marcados con ^3H y ^{14}C) son útiles en ensayos de distribución del compuesto y/o sustrato en tejidos. Los isótopos tritados (es decir, ^3H) y de carbono-14 (es decir, ^{14}C) son útiles por su facilidad de preparación y detectabilidad. Además, la sustitución con isótopos más pesados, tales como deuterio (es decir, ^2H) puede proporcionar determinadas ventajas terapéuticas que dan como resultado una mayor estabilidad metabólica (por ejemplo, mayor semivida *in vivo* o menores requisitos de dosificación) y, por lo tanto, pueden preferirse en algunas circunstancias. Los isótopos que emiten positrones, tales como ^{15}O , ^{13}N , ^{11}C y ^{18}F son útiles para estudios de tomografía de emisión de positrones (PET) para examinar la ocupación de los receptores en el sustrato. Los compuestos marcados con isótopos de la reivindicación 1 pueden prepararse generalmente siguiendo procedimientos análogos a los desvelados en los Ejemplos más adelante en el presente documento, sustituyendo un reactivo no marcado isotópicamente por un reactivo marcado isotópicamente.

SÍNTESIS DE COMPUESTOS INHIBIDORES DE PIRAZOLOPIRIMIDINA JAK

Los compuestos de la reivindicación 1 pueden sintetizarse mediante rutas sintéticas descritas en el presente documento. En determinadas realizaciones, pueden usarse procedimientos bien conocidos en las técnicas químicas, además de, o a la luz de, la descripción contenida en el presente documento. Los materiales de partida están generalmente disponibles de fuentes comerciales, tales como Aldrich Chemicals (Milwaukee, Wis.) o se preparan fácilmente usando procedimientos bien conocidos para los expertos en la materia (por ejemplo, preparados por procedimientos descritos de un modo general en Louis F. Fieser y Mary Fieser, Reagents for Organic Synthesis, v. 1-19, Wiley, N. Y. (1967-1999 ed.), Beilsteins Handbuch der organischen Chemie, 4, Aufl. ed. Springer-Verlag, Berlín, incluyendo suplementos (también disponible mediante la base de datos en línea de Beilstein)) o Comprehensive Heterocyclic Chemistry, Editores Katrizky y Rees, Pergamon Press, 1984.

Los compuestos de la reivindicación 1 pueden prepararse individualmente o como bibliotecas de compuestos que comprenden al menos 2 compuestos de la reivindicación 1. Pueden prepararse bibliotecas de compuestos de la reivindicación 1 mediante un enfoque combinatorio de "división y mezcla" o mediante múltiples síntesis paralelas usando química tanto en fase de solución o en fase sólida, por procedimientos conocidos para los expertos en la materia. Para una descripción más detallada de etapas de reacción individuales, véase la sección de Ejemplos posterior. Los expertos en la materia apreciarán que pueden usarse otras rutas sintéticas para sintetizar los compuestos de la invención. Aunque se describen más adelante reactivos y materiales de partida específicos, pueden sustituirse por otros reactivos y materiales de partida para proporcionar diversos derivados y/o condiciones de reacción.

PROCEDIMIENTOS DE SEPARACIÓN

En cada uno de los Ejemplos puede ser ventajoso separar productos de reacción unos de otros y/o de los materiales de partida. Los productos deseados de cada etapa o serie de etapas se separan y/o purifican (en lo sucesivo separan) al grado deseado de homogeneidad mediante las técnicas comunes en la materia. Normalmente, tales separaciones implican extracción multifase, cristalización en un disolvente o mezcla de disolventes, destilación,

sublimación o cromatografía. La cromatografía puede implicar diversos procedimientos incluyendo, por ejemplo: de fase inversa y de fase normal; exclusión por tamaño; intercambio iónico; aparatos y procedimientos de cromatografía líquida de alta, media y baja presión; analítica a pequeña escala; lecho de movimiento simulado (SMB) y cromatografía preparativa de capa fina o espesa, así como técnicas de cromatografía de capa fina y ultrarrápida a pequeña escala.

Otras clase de procedimientos de preparación implican el tratamiento de una mezcla con un reactivo seleccionado para unirse a, o producir de otro modo, un producto deseado separable, material de partida sin reaccionar, reacción por producto o similares. Tales reactivos incluyen adsorbentes o absorbentes, tales como carbono activado, tamices moleculares, medios de intercambio iónico o similares. Como alternativa, los reactivos pueden ser ácidos en el caso de un material básico, bases en el caso de un material ácido, reactivos de unión, tales como anticuerpos, proteínas de unión, quelantes selectivos, tales como éteres de corona, reactivos de extracción iónica líquido/líquido (LIX) o similares.

La selección de los procedimientos de separación adecuados depende de la naturaleza de los materiales implicados. Por ejemplo, punto de ebullición y peso molecular en destilación y sublimación, presencia o ausencia de grupos funcionales polares en cromatografía, estabilidad de materiales en medios ácidos y básicos en extracción multifase y similares. Un experto en la materia aplicará técnicas con más posibilidades de lograr la separación deseada.

EVALUACIÓN BIOLÓGICA

Los estudios previos han demostrado que los dominios de cinasa aislados de JAK1, JAK2, JAK3 o TYK2 humanos fosforilan los sustratos peptídicos en ensayos de cinasa *in vitro* (Saltzman y col., Biochem. Biophys. Res. Commun. 246:627-633(2004)). El dominio de cinasa catalíticamente activo de la JAK1, JAK2, JAK3 o TYK2 humana se purificó a partir de extractos de células de insecto SF9 con un vector de expresión de baculovirus recombinante que codifica el dominio de cinasa JAK1, JAK2, JAK3 o TYK 2 humanas (restos de aminoácido de JAK1 N852-D1154 de acuerdo con la numeración del número de acceso de la secuencia en GenBank P23458, restos de aminoácido de JAK2 D812-G1132 de acuerdo con la numeración del número de acceso de la secuencia en GenBank NP_004963.1; restos de aminoácido de JAK3 S783-S1124 de acuerdo con la numeración del número de acceso de la secuencia en GenBank P52333 y restos de aminoácido de TYK2 N873-C1187 de acuerdo con la numeración del número de acceso de la secuencia en GenBank P29597). La actividad de los dominios de cinasa de JAK1, JAK2, JAK3 o TYK2 se puede medir mediante diversos métodos directos e indirectos, incluyendo cuantificación de la fosforilación de sustratos peptídicos derivados de la proteína humana JAK3, (Saltzman y col., Biochem. Biophys. Res. Commun. 246:627-633(2004)). La actividad de los dominios de cinasa de JAK1, JAK2, JAK3 o TYK2 se midió *in vitro* mediante monitorización de la fosforilación de péptidos derivados de JAK3 usando la tecnología Caliper LabChip (véanse los Ejemplos).

Los compuestos de la presente invención se someten a ensayo para determinar su capacidad de inhibir la actividad y la activación de una Janus cinasa (ensayos primarios) y sus efectos biológicos sobre las células en crecimiento (ensayos secundarios) como se describe en el presente documento. Los compuestos que tienen un valor de K_i de menos de 10 μM (preferentemente menos de 5 μM , más preferentemente menos de 1 μM , de forma más preferente menos de 0,5 μM) en el ensayo de actividad y activación de Janus cinasa (véanse los Ejemplos A y B y una CE_{50} de menos de 20 μM (preferentemente menos de 10 μM , más preferentemente menos de 5 μM , de forma más preferente menos de 1 μM) en los ensayos celulares adecuados (véase el Ejemplo C) son útiles como inhibidores de Janus cinasa.

ADMINISTRACIÓN DE COMPUESTOS INHIBIDORES DE JANUS CINASA

Otra realización incluye un compuesto de la reivindicación 1 para su uso en un método para tratar o disminuir la gravedad de una enfermedad o una afección sensibles a la inhibición de la actividad de la Janus cinasa en un paciente, como se define en las reivindicaciones. El método incluye la etapa de administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de la reivindicación 1. En una realización, la enfermedad es una enfermedad autoinmune.

Otra realización incluye un compuesto de la reivindicación 1 para su uso en terapia.

En un uso, se administra un compuesto de la reivindicación 1 a un paciente en una cantidad terapéuticamente eficaz para tratar o disminuir la gravedad de una enfermedad o afección que responde a la inhibición de una actividad de Janus cinasa y dicho compuesto es al menos 15 veces, como alternativa 10 veces, como alternativa 5 veces o más selectivo en la inhibición de la actividad de una Janus cinasa sobre la inhibición de una o más de las otras actividades de Janus cinasa.

En una realización, la enfermedad o afección es cáncer, accidente cerebrovascular, diabetes, hepatomegalia, enfermedad cardiovascular, esclerosis múltiple, enfermedad de Alzheimer, fibrosis quística, enfermedad vírica, enfermedades autoinmunes, aterosclerosis, reestenosis, psoriasis, trastornos alérgicos, inflamación, trastornos neurológicos, una enfermedad relacionada con las hormonas, afecciones asociadas con trasplante de órganos,

trastornos de inmunodeficiencia, trastornos de destrucción ósea, trastornos proliferativos, enfermedades infecciosas, afecciones asociadas con muerte celular, agregación de plaquetas inducida por trombina, enfermedad hepática, afecciones inmunes patológicas que implican activación de linfocitos T, trastornos del SNC o un trastorno mieloproliferativo.

- 5 En una realización, la enfermedad o afección es cáncer.
- En una realización, la enfermedad es un trastorno mieloproliferativo.

- 10 En una realización, el trastorno mieloproliferativo es policitemia vera, trombocitosis esencial, mielofibrosis o leucemia mielógena crónica (LMC).

- En una realización, el cáncer es cáncer de mama, ovarios, cuello de útero, de próstata, testículos, peniano, del tracto genitourinario, seminoma, esófago, laringe, gástrico, estómago, gastrointestinal, piel, queratoacantoma, carcinoma folicular, melanoma, pulmón, carcinoma de pulmón microcítico, cáncer de pulmón no microcítico (CPNM), adenocarcinoma de pulmón, carcinoma escamoso del pulmón, colon, páncreas, tiroides, papilar, vejiga, hígado, vías biliares, riñón, óseo, trastornos mieloides, trastornos linfoides, células pilosas, cavidad bucal y faringe (oral), labio, lengua, boca, glándulas salivales, faringe, intestino delgado, colon, recto, anal, renal, de próstata, vulval, tiroides, intestino grueso, cáncer de endometrio, uterino, cerebro, sistema nervio central, cáncer de peritoneo, cáncer hepatocelular, cáncer de cabeza, cáncer de cuello, de Hodgkin o leucemia.

- 20 En una realización, la enfermedad cardiovascular es reestenosis, cardiomegalia, aterosclerosis, infarto de miocardio o insuficiencia cardíaca congestiva.

- 25 En una realización, la enfermedad neurodegenerativa es enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica, enfermedad de Huntington, e isquemia cerebral, y enfermedad neurodegenerativa causada por lesión traumática, neurotoxicidad por glutamato o hipoxia.

- 30 En una realización, la enfermedad inflamatoria es enfermedad intestinal inflamatoria, artritis reumatoide, psoriasis, dermatitis de contacto o reacciones de hipersensibilidad retrasadas.

En una realización, la enfermedad autoinmune es lupus o esclerosis múltiple.

- 35 En una realización, la enfermedad autoinmune es enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, colitis colagenosa, colitis linfocítica, colitis isquémica, colitis por derivación, síndrome de Behçet, colitis infecciosa y colitis indeterminada.

- La evaluación de la inmunosupresión inducida por fármacos mediante los compuestos de la invención se puede realizar usando ensayos funcionales *in vivo*, tales como modelos de roedores de artritis inducida y tratamiento terapéutico o profiláctico para evaluar la puntuación de la enfermedad, la respuesta de anticuerpos dependiente de linfocitos T (TDAR) y retraso de tipo de hipersensibilidad (DTH). Se pueden considerar otros sistemas *in vivo* que incluyen modelos murinos de defensa del huésped frente a infecciones o resistencia a tumores (Burlison GR, Dean JH y Munson AE. *Methods in Immunotoxicology*, Vol. 1. Wiley-Liss, New York, 1995) para aclarar la naturaleza o los mecanismos de inmunosupresión observados. Los sistemas de ensayo *in vivo* pueden complementarse con ensayos funcionales *in vitro* o *ex vivo* bien establecidos para la evaluación de la competencia inmune. Estos ensayos pueden comprender la proliferación de linfocitos B o T en respuesta a mitógenos o antígenos específicos, la medición de la señalización a través de una o más de las rutas de Janus cinasa en linfocitos B o T o líneas de linfocitos B o T inmortalizados, la medición de marcadores de superficie celular en respuesta a señalización de linfocitos B o T, actividad de células asesinas naturales (NK), actividad de mastocitos, degranulación de mastocitos, fagocitosis de macrófagos o actividad de destrucción y estallido oxidativo y/o quimiotaxis de neutrófilos. En cada uno de estos ensayos, puede incluirse la determinación de la producción de citocinas por células efectoras concretas (por ejemplo, linfocitos, NK, monocitos/macrófagos, neutrófilos). Los ensayos *in vitro* y *ex vivo* se pueden aplicar en pruebas tanto preclínicas como clínicas utilizando tejidos linfoides y/o sangre periférica (House RV. "Theory and practice of cytokine assessment in immunotoxicology" (1999) *Methods* 19:17-27; Hubbard AK. "Effects of xenobiotics on macrophage function: evaluation *in vitro*" (1999) *Methods*; 19:8-16; Lebrech H, et al (2001) *Toxicology* 158:25-29).

- 55 Estudio detallado de artritis inducida por colágeno (AIC) de 6 semanas usando un mecanismo autoinmune para imitar la artritis humana; modelos de rata y ratón (Ejemplo 68). La artritis inducida por colágeno (AIC) es uno de los modelos animales más utilizados en la artritis reumatoide humana (AR). La inflamación articular, que se desarrolla en animales con AIC, se parece mucho a la inflamación observada en pacientes con AR. El bloqueo del factor de necrosis tumoral (TNF) es un tratamiento eficaz de la AIC, al igual que una terapia altamente eficaz en el tratamiento de pacientes con AR. La AIC está mediada por linfocitos T y anticuerpos (linfocitos B). Se cree que los macrófagos desempeñan un papel importante en la mediación del daño tisular durante el desarrollo de la enfermedad. La AIC se induce inmunizando animales con colágeno emulsionado en adyuvante completo de Freund (ACF). Se induce más habitualmente en la cepa de ratón DBA/1, pero la enfermedad también puede inducirse en ratas Lewis.

- 65 Hay buenas evidencias de que los linfocitos B desempeñan un papel clave en la patogenia de la enfermedad

autoinmune y/o inflamatoria. Las terapias basadas en proteínas que destruyen linfocitos B, tales como Rituxan, son eficaces contra las enfermedades inflamatorias inducidas por autoanticuerpos, tales como la artritis reumatoide (Rastetter y col. (2004) Annu Rev Med 55:477). CD69 es el marcador de activación temprana en leucocitos que incluyen linfocitos T, timocitos, linfocitos B, células NK, neutrófilos y eosinófilos. El ensayo con sangre entera humana CD69 (Ejemplo 69) determina la capacidad de los compuestos para inhibir la producción de CD69 por los linfocitos B en sangre humana entera activada por reticulación de IgM de superficie con IgM antihumana células F(ab')₂ de cabra.

La respuesta de anticuerpo dependiente de linfocitos T (TDAR) es un ensayo predictivo para la prueba de la función inmune cuando se tienen que estudiar los posibles efectos inmunotóxicos de los compuestos. El ensayo de células formadoras de placas-IgM (CFP), que usa glóbulos rojos de oveja (SRBC) como antígeno, es actualmente una prueba estándar ampliamente aceptada y validada. Se ha demostrado que la TDAR es un ensayo altamente predecible para la detección de inmunotoxicidad en adultos por exposición en ratones, basado en la base de datos del Programa Nacional de Toxicología (NTP) de EE.UU. (M. I. Luster et al (1992) Fundam. Appl. Toxicol. 18:200-210). La utilidad de este ensayo radica en el hecho de que es una medida holística que implica varios componentes importantes de una respuesta inmune. Una TDAR depende de las funciones de los siguientes compartimentos celulares: (1) células presentadoras de antígeno, tales como macrófagos o células dendríticas; (2) linfocitos T colaboradores, que son partes cruciales en la génesis de la respuesta, así como en el cambio de isotipo; y (3) linfocitos B, que son las últimas células efectoras y responsables de la producción de anticuerpos. Los cambios inducidos químicamente en cualquier compartimento pueden causar cambios significativos en la TDAR general (M. P. Holsapple en: G. R. Burleson, J. H. Dean y A. E. Munson, Editores, Methods in Immunotoxicology, Volumen 1, Wiley-Liss Publishers, Nueva York, NY (1995); págs. 71-108). Normalmente, este ensayo se realiza como un ELISA para la medición de anticuerpos solubles (R. J. Smialowicz et al (2001) Toxicol. Sci. 61:164-175) o como un ensayo de células formadoras de placas (o anticuerpos) (L. Guo et al (2002) Toxicol. Appl. Pharmacol. 181:219-227) para detectar células plasmáticas que secretan anticuerpos específicos de antígeno. El antígeno de elección es células enteras (por ejemplo, eritrocitos de oveja) o antígenos proteicos solubles (T. Miller et al (1998) Toxicol. Sci. 42:129-135).

Un compuesto de la reivindicación 1 puede administrarse por cualquier vía apropiada a la enfermedad o afección a tratar. Las vías adecuadas incluyen la oral, parenteral (incluyendo subcutánea, intramuscular, intravenosa, intraarterial, intradérmica, intratecal y epidural), transdérmica, rectal, nasal, tópica (incluyendo bucal y sublingual), vaginal, intraperitoneal, intrapulmonar e intranasal. Para el tratamiento inmunosupresor local, los compuestos pueden administrarse mediante administración intralesional, incluyendo la perfusión o, de otro modo, el contacto del injerto con el inhibidor antes del trasplante. Se apreciará que la vía preferente puede variar con, por ejemplo, la afección del destinatario. Cuando el compuesto de la reivindicación 1 se administra por vía oral, se puede formular como una píldora, cápsula, comprimido, etc. con un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable. Cuando el compuesto de la reivindicación 1 se administra por vía parenteral, se puede formular con un vehículo parenteral farmacéuticamente aceptable y en una forma inyectable de dosificación unitaria, como se detalla a continuación.

Una dosis para tratar pacientes humanos puede variar de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 1000 mg de un compuesto de la reivindicación 1. Una dosis típica puede ser de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 300 mg de un compuesto de la reivindicación 1. Se puede administrar una dosis una vez al día (QD), dos veces al día (BID) o con más frecuencia, dependiendo de las propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas, incluida la absorción, la distribución, el metabolismo y la excreción del compuesto en particular. Además, los factores de toxicidad pueden influir en la dosis y el régimen de administración. Cuando se administra por vía oral, la píldora, cápsula o comprimido pueden ingerirse diariamente o, con menos frecuencia, durante un período de tiempo específico. El régimen puede repetirse durante una serie de ciclos de terapia.

FORMULACIONES FARMACÉUTICAS DE LOS COMPUESTOS INHIBIDORES DE JANUS CINASA

Otra realización incluye una composición farmacéutica que incluye un compuesto de la reivindicación 1 y un excipiente, adyuvante o vehículo farmacéuticamente aceptables.

En una realización, la composición farmacéutica también incluye un agente terapéutico adicional seleccionado entre un agente antiproliferativo, un agente antiinflamatorio, un agente inmunomodulador, un factor neurotrópico, un agente para tratar una enfermedad cardiovascular, un agente para tratar una enfermedad hepática, un agente antiviral, un agente para tratar trastornos sanguíneos, un agente para tratar la diabetes o un agente para tratar trastornos de inmunodeficiencia.

En una realización, un compuesto de la reivindicación 1 está presente en una formulación farmacéutica en una cantidad para inhibir de forma detectable la actividad de una Janus cinasa y un excipiente, adyuvante o vehículo farmacéuticamente aceptables.

En una realización, un compuesto de la reivindicación 1 está presente en una formulación farmacéutica en una cantidad para inhibir de forma detectable la actividad de una Janus cinasa y es al menos 15 veces, como alternativa 10 veces o 5 veces o más selectivo en la inhibición de la actividad de una Janus cinasa que en la inhibición de una o

más de las actividades de las demás JAK1, JAK2, JAK3 y/o Tyk-2.

Una formulación típica se prepara mezclando un compuesto de la presente invención y un vehículo, diluyente o excipiente. Los vehículos, diluyentes y excipientes adecuados son bien conocidos por los expertos en la técnica e incluyen materiales tales como carbohidratos, ceras, polímeros hidrosolubles y/o hinchables en agua, materiales hidrofílicos o hidrofóbicos, gelatina, aceites, los disolventes, agua y similares. El vehículo, diluyente o excipiente concreto usado dependerá de los medios y el fin para el cual el compuesto de la presente invención se esté aplicando. En general, los disolventes se seleccionan sobre la base de los disolventes reconocidos por los expertos en la técnica como seguros (GRAS) para su administración a un mamífero. En general, los disolventes seguros son disolventes acuosos no tóxicos tales como agua y otros disolventes no tóxicos que son solubles o miscibles en agua. Disolventes acuosos adecuados incluyen agua, etanol, propilenglicol, polialquilenglicoles (por ejemplo, PEG400, PEG300), etc. y mezclas de los mismos. Las formulaciones puede también incluir uno o más tampones, agentes estabilizantes, tensioactivos, agentes humectantes, agentes lubricantes, emulsionantes, agentes de suspensión, conservantes, antioxidantes, agentes enmascarantes, emolientes, adyuvantes de procesamiento, colorantes, edulcorantes, agentes perfumantes, agentes aromatizantes y otros aditivos conocidos, para proporcionar una presentación elegante de fármaco (Es decir, un compuesto de la presente invención o composición farmacéutica del mismo) o ayudar en la fabricación del producto farmacéutico (es decir, medicamento).

Las formulaciones se pueden preparar usando procedimientos convencionales de disolución y mezclado. Por ejemplo, la sustancia farmacéutica bruta (es decir, el compuesto de la presente invención o la forma estabilizada del compuesto, tal como un complejo con un derivado de ciclodextrina u otro agente de formación de complejos conocido) en un disolvente adecuado en presencia de uno o más de los excipientes descritos anteriormente. Normalmente, el compuesto de la presente invención se formula en formas de dosificación farmacéutica para proporcionar una dosificación de fácil control del fármaco y para permitir que el paciente cumpla el régimen prescrito.

La composición (o formulación) farmacéutica para aplicación se puede envasar en diversas formas dependiendo del procedimiento usado para administrar el fármaco. En general, un artículo para distribución incluye un recipiente en el que se ha depositado la formulación farmacéutica en una forma adecuada. Los recipientes adecuados son bien conocidos para los expertos en la técnica e incluyen materiales tales como botellas (de plástico y de cristal), sobrecitos, ampollas, bolsas de plástico, cilindros metálicos y similares. El recipiente puede también incluir un ensamblaje a prueba de manipulaciones para prevenir el acceso inconveniente a los contenidos del envase. Además, el recipiente tiene depositado en su interior una etiqueta que describe el contenido del recipiente. La etiqueta puede también incluir advertencias adecuadas.

Las formulaciones farmacéuticas de un compuesto de la reivindicación 1 se pueden preparar para diversas vías y tipos de administración. Un compuesto de la reivindicación 1 que tiene el grado de pureza deseado se mezcla, opcionalmente, con diluyentes, vehículos, excipientes o estabilizantes farmacéuticamente aceptables (Remington's Pharmaceutical Sciences (1980) 16ª edición, Osol, A. Ed.), en forma de una formulación liofilizada, polvo molido, o una solución acuosa. La formulación se puede llevar a cabo mediante la mezcla a temperatura ambiente al pH apropiado y con el grado de pureza deseado, con vehículos fisiológicamente aceptables, es decir, vehículos que no son tóxicos para los receptores a las dosificaciones y concentraciones empleadas. El pH de la formulación depende principalmente del uso particular y la concentración del compuesto, pero puede variar de aproximadamente 3 a aproximadamente 8. La formulación en un tampón acetato a pH 5 es una realización adecuada.

En una realización, el compuesto de la reivindicación 1 para uso en una composición farmacéutica es básicamente estéril. Habitualmente, el compuesto se almacenará en forma de una composición sólida, aunque son aceptables formulaciones liofilizadas o soluciones acuosas.

Las composiciones farmacéuticas de la invención se formularán, dosificarán y administrarán de una forma, es decir, en cantidades, concentraciones, pautas, curso, vehículos y vías de administración, consistente con la buena práctica médica. Los factores para consideración en este contexto incluyen el trastorno particular a tratarse, el mamífero particular a tratarse, la afección clínica del paciente individual, la causa del trastorno, el sitio de transporte del agente, el método de administración, el horario de administración y otros factores conocidos por los médicos facultativos. La "cantidad terapéuticamente eficaz" del compuesto que se va administrar estará gobernada por tales consideraciones y es la cantidad mínima necesaria para prevenir, mejorar o tratar el trastorno. Tal cantidad está, preferentemente, por debajo de la cantidad que es tóxica para el huésped.

Como regla general, la cantidad farmacéuticamente eficaz inicial del inhibidor administrada por vía parenteral por dosis estará en el intervalo de aproximadamente 0,01-100 mg/kg, en concreto aproximadamente de 0,1 a 20 mg/kg de peso corporal de paciente al día, usándose el intervalo inicial habitual del compuesto de 0,3 a 15 mg/kg/día.

Los diluyentes, vehículos, excipientes, y estabilizantes aceptables son no tóxicos para los receptores a las dosificaciones y concentraciones empleadas, e incluyen tampones tales como fosfato, citrato y otros ácidos orgánicos; antioxidantes incluyendo ácido ascórbico y metionina; conservantes (tales como cloruro de octadecildimetilbencil amonio; cloruro de hexametonio; cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio; fenol, alcohol butílico o bencílico; parabenos de alquilo tales como parabeno de metilo o propilo; catecol; resorcinol; ciclohexanol;

3-pentanol; y m-cresol); polipéptidos de bajo peso molecular (de menos de aproximadamente 10 restos); proteínas, tales como seroalbúmina, gelatina o inmunoglobulinas; polímeros hidrófilos tales como polivinilpirrolidona; aminoácidos tales como glicina, glutamina, asparagina, histidina, arginina o lisina; monosacáridos, disacáridos y otros carbohidratos incluyendo glucosa, manosa o dextrinas; agentes quelantes tales como EDTA; azúcares tales como sacarosa, manitol, trehalosa o sorbitol; contraiones formadores de sales tales como sodio; complejos metálicos (por ejemplo complejos de Zn-proteína); y/o tensioactivos no iónicos, tales como TWEEN™, PLURONICS™ o polietilenglicol (PEG). Los ingredientes farmacéuticos activos pueden atraparse en microcápsulas preparadas, por ejemplo, por técnicas de coacervación o por polimerización interfacial, por ejemplo, microcápsulas de hidroximetilcelulosa o gelatina y microcápsulas de poli-(metilmetacrilato), respectivamente, en sistemas de transporte de fármacos coloidales (por ejemplo, liposomas, microesferas de albúmina, microemulsiones, nanopartículas y nanocápsulas) o en macroemulsiones. Tales técnicas se desvelan en Remington's Pharmaceutical Sciences 16a edición, Osol, A. Ed. (1980).

Pueden prepararse preparaciones de liberación sostenida. Los ejemplos adecuados de preparaciones de liberación sostenida incluyen matrices semipermeables de polímeros hidrófobos sólidos que contienen un compuesto de la reivindicación 1, cuyas matrices están en forma de artículos con forma, por ejemplo, películas o microcápsulas. Los ejemplos de matrices de liberación sostenida incluyen poliésteres, hidrogeles (por ejemplo, poli(2-hidroxietilmetacrilato), o poli(alcohol vinílico)), polilactidas, copolímeros de ácido L-glutámico y gamma-etil-L-glutamato, acetato de etileno-vinilo no degradable, copolímeros de ácido láctico-ácido glicólico degradables, tales como la serie LUPRON DEPOT™ (microesferas inyectables compuestas por un copolímero de ácido láctico-ácido glicólico y acetato de leuprolida) y poli-ácido D-(-)-3-hidroxibutírico.

Las formulaciones que se van a usar para la administración *in vivo* son generalmente estériles, lo que se lleva a cabo fácilmente mediante filtración a través de membranas de filtración estériles.

Las formulaciones incluyen las adecuadas para las vías de administración precedentes detalladas en el presente documento. Las formulaciones pueden presentarse convenientemente en una forma farmacéutica unitaria y se pueden preparar por cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica de farmacia. Las técnicas y formulaciones se encuentran en general en Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Co., Easton, PA). Tales métodos incluyen la etapa de poner en asociación el principio activo con el transportador que constituye uno o más ingredientes auxiliares. En general, las formulaciones se preparan asociando de forma uniforme y estrecha el principio activo con transportadores líquidos o transportadores sólidos finamente divididos, o ambos, y después, si es necesario, moldeando el producto.

Las formulaciones de un compuesto de la reivindicación 1 adecuadas para administración oral pueden presentarse como unidades discretas tales como píldoras, cápsulas, obleas o comprimidos, conteniendo cada uno de ellos una cantidad predeterminada del compuesto de la reivindicación 1.

Los comprimidos prensados pueden prepararse prensando en una máquina adecuada el principio activo en una forma fluida tal como polvos o gránulos, mezclados de forma opcional con un aglutinante, lubricante, diluyente inerte, conservante, tensioactivo o dispersante. Los comprimidos moldeados pueden prepararse moldeando en una máquina adecuada una mezcla del principio activo en polvo humedecida con un diluyente líquido inerte. Los comprimidos pueden revestirse o marcarse y, de forma opcional, se formulan de forma que se proporcione una liberación lenta o controlada del principio activo de estos.

Los comprimidos, trociscos, pastillas para chupar, suspensiones acuosas u oleosas, polvos o gránulos dispersables, emulsiones, cápsulas duras o blandas, por ejemplo, cápsulas de gelatina, jarabes o elixires se pueden preparar para su uso oral. Las formulaciones de un compuesto de la reivindicación 1 destinadas a uso oral pueden prepararse de acuerdo con cualquier método conocido en la técnica para la fabricación de composiciones farmacéuticas, y tales composiciones pueden contener uno o más agentes, incluyendo agentes edulcorantes, agentes saborizantes, agentes colorantes y agentes conservantes, con el fin de proporcionar una preparación sabrosa. Son aceptables los comprimidos que contienen el principio activo en combinación con un excipiente no tóxico farmacéuticamente aceptable que son adecuados para la fabricación de comprimidos. Estos excipientes pueden ser, por ejemplo, diluyentes inertes, tales como carbonato de calcio o de sodio, lactosa, fosfato de calcio o de sodio; agentes de granulación y disgregantes, tales como almidón de maíz o ácido algínico; agentes aglutinantes, tales como almidón, gelatina o goma arábiga; y agentes lubricantes, tales como estearato de magnesio, ácido esteárico o talco. Los comprimidos pueden estar sin recubrir o pueden recubrirse mediante técnicas conocidas que incluyen la microencapsulación, para retrasar la desintegración y la adsorción en el tracto gastrointestinal, y proporcionar de esta forma una acción sostenida durante un periodo más largo. Por ejemplo, puede emplearse un material de retraso temporal tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo, solo o con una cera.

Para infecciones oculares o de otros tejidos externos, por ejemplo, boca y piel, las formulaciones se aplican preferentemente como una pomada o crema tópica que contiene el principio activo (o principios activos) en una cantidad de, por ejemplo, de 0,075 a 20 % p/p. Cuando se formulan en una pomada, los principios activos pueden emplearse con una base de pomada parafínica o miscible en agua. Como alternativa, los principios activos pueden formularse en una crema con una base de crema de aceite en agua.

Si se desea, la fase acuosa de la base de crema puede incluir un alcohol polihídrico, es decir, un alcohol que tiene dos o más grupos hidroxilo tal como propilenglicol, butano 1,3-diol, manitol, sorbitol, glicerol y polietilenglicol (incluyendo PEG 400), y mezclas de los mismos. Las formulaciones tópicas pueden incluir, a ser posible, un compuesto que potencie la absorción o la penetración del principio activo a través de la piel u otras zonas afectadas.

5 Los ejemplos de tales potenciadores de la penetración cutánea incluyen dimetilsulfóxido y análogos relacionados.

La fase oleosa de las emulsiones de la presente invención puede estar constituida a partir de ingredientes conocidos de una manera conocida. Aunque la fase puede comprender simplemente un emulsionante (conocido también como emulgente), comprende a ser posible una mezcla de al menos un emulsionante con una grasa o un aceite, o con tanto una grasa como un aceite. Preferentemente, se incluye un emulsionante hidrófilo junto con un emulsionante lipófilo que actúa como estabilizante. También se prefiere incluir tanto un aceite como una grasa. Juntos, el emulsionante (o emulsionantes) con o sin el estabilizador (o estabilizadores) constituyen la denominada cera emulsionante y la cera junto con el aceite y la grasa constituyen la denominada base de pomada emulsionante que forma la fase oleosa dispersa de las formulaciones de crema. Los emulgentes y estabilizantes de emulsión adecuados para su uso en la formulación de la invención incluyen Tween® 60, Span® 80, alcohol cetoestearílico, alcohol bencílico, alcohol miristílico, monoestearato de glicerilo y laurilsulfato de sodio.

10

Las suspensiones acuosas de la invención contienen los materiales activos en combinación con excipientes adecuados para la fabricación de suspensiones acuosas. Dichos excipientes incluyen un agente de suspensión, tal como carboximetilcelulosa de sodio, croscarmelosa, povidona, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, alginato de sodio, polivinilpirrolidona, goma de tragacanto y goma arábica, y agentes de dispersión o humectantes tales como fosfátidos de origen natural (por ejemplo, lecitina), un producto de condensación de un óxido de alquilo (por ejemplo, óxido de etileno, óxido de propileno) con un ácido graso (por ejemplo, estearato de polioxitileno), un producto de condensación de óxido de etileno con un alcohol alifático de cadena larga (por ejemplo, heptadecaetilenoxietanol), un producto de condensación de óxido de etileno con un éster parcial derivado de un ácido graso y un hexitol anhidro (por ejemplo, monooleato de polioxitilensorbitano). La suspensión acuosa puede contener también uno o más conservantes, tales como p-hidroxibenzoato de etilo o de n-propilo, uno o más agentes colorantes, uno o más agentes saborizantes, y uno o más agentes edulcorantes, tales como sacarosa o sacarina.

20

La composición farmacéutica de un compuesto de la reivindicación 1 puede estar en forma de una preparación inyectable estéril, tal como una suspensión acuosa u oleaginosa inyectable estéril. Esta suspensión puede formularse de acuerdo con la técnica conocida usando los agentes dispersantes o humectantes adecuados y los agentes de suspensión que se han mencionado anteriormente. La preparación inyectable estéril puede ser también una solución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o disolvente no tóxico parenteralmente aceptable, tal como una solución en 1,3-butanodiol o prepararse como polvo liofilizado. Entre los vehículos y disolventes aceptables que pueden emplearse están el agua, la solución de Ringer y solución de cloruro de sodio isotónica. Además, pueden emplearse de manera convencional aceites no volátiles estériles como disolvente o medio de suspensión. Para este fin, puede emplearse cualquier aceite suave no volátil, incluyendo mono- o diglicéridos sintéticos. Además, en la preparación de inyectables pueden usarse asimismo ácidos grasos, tales como ácido oleico.

30

La cantidad de principio activo que puede combinarse con el material transportador para producir una forma farmacéutica unitaria variará dependiendo del hospedador tratado y del modo de administración particular. Por ejemplo, una formulación de liberación temporal prevista para la administración oral a seres humanos puede contener aproximadamente 1 a 1000 mg de material activo compuesto con una cantidad apropiada y conveniente de material transportador, que puede variar de aproximadamente el 5 a aproximadamente el 95 % de las composiciones totales (peso: peso). La composición farmacéutica puede prepararse para proporcionar cantidades fácilmente medibles para su administración. Por ejemplo, una disolución acuosa prevista para la infusión intravenosa puede contener desde aproximadamente 3 a 500 µg del principio activo por mililitro de solución a fin de que se pueda producir la infusión de un volumen adecuado a una velocidad de aproximadamente 30 ml/h.

45

Las formulaciones adecuadas para administración parenteral incluyen soluciones para inyección estéril acuosas y no acuosas que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostáticos y solutos que hacen a la formulación isotónica con la sangre del destinatario previsto; y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes de suspensión y agentes espesantes.

55

Las formulaciones adecuadas para administración tópica también incluyen gotas oculares, en las que el principio activo se disuelve o suspende en un transportador adecuado, en especial un disolvente acuoso para el principio activo. El principio activo está presente preferentemente en tales formulaciones en una concentración del 0,5 al 20 % p/p, ventajosamente del 0,5 al 10 %, particularmente aproximadamente el 1,5 % p/p.

60

Las formulaciones adecuadas para administración tópica en la boca incluyen pastillas para chupar que comprenden al principio activo en una base saborizada, normalmente sacarosa y goma arábica o tragacanto; pastillas que comprenden el principio activo en una base inerte, tal como gelatina y glicerina, o sacarosa y goma arábica; y enjuagues bucales que comprenden el principio activo en un vehículo líquido adecuado.

65

Las formulaciones para administración rectal pueden presentarse como un supositorio con una base adecuada que comprenda, por ejemplo, manteca de cacao o un salicilato.

Las formulaciones adecuadas para administración intrapulmonar o nasal tienen un tamaño de partícula por ejemplo en el intervalo de 0,1 a 500 micrómetros (incluyendo tamaños de partícula en un intervalo entre 0,1 y 500 micrómetros en incrementos de micrómetros tales como 0,5, 1, 30 micrómetros, 35 micrómetros, etc.), que se administran por inhalación rápida a través de las fosas nasales o mediante inhalación a través de la boca, de forma que alcance los sacos alveolares. Las formulaciones adecuadas incluyen soluciones acuosas u oleosas del principio activo. Las formulaciones adecuadas para administración en aerosol o en polvo seco se pueden preparar de acuerdo con los procedimientos convencionales y pueden liberarse con otros agentes terapéuticos tales como compuestos usados hasta ahora en el tratamiento o profilaxis de infecciones por VIH, tal como se describe a continuación.

Las formulaciones adecuadas para administración vaginal se pueden presentar como pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o formulaciones en pulverización que contienen, además del principio activo, los transportadores que en la técnica se sabe que son apropiados.

Las formulaciones se pueden envasar en recipientes de dosis unitaria o de dosis múltiple, por ejemplo, ampollas selladas y viales, y pueden almacenarse en estado criodesecado (liofilizado) que requiere únicamente la adición del transportador líquido estéril, por ejemplo, agua, para inyección inmediatamente antes de su uso. Las soluciones y suspensiones de inyección extemporánea se preparan a partir de polvos estériles, gránulos y comprimidos del tipo descrito anteriormente. Las formulaciones de dosificación individual preferentes son las que contienen una dosis diaria o una subdosis diaria unitaria, como se recita en el presente documento anteriormente, o una fracción apropiada de las misma, del principio activo.

La invención también puede usarse en composiciones veterinarias que comprenden al menos un principio activo como se ha definido anteriormente junto con un vehículo veterinario para ello. Vehículos veterinarios son materiales útiles para el fin de administrar la composición y pueden ser materiales sólidos, líquidos o gaseosos que, de otro modo, son inertes o aceptables en la técnica veterinaria y son compatibles con el ingrediente activo. Estas composiciones veterinarias pueden administrarse por vía parenteral, oral o mediante cualquier otra vía deseada.

TERAPIA DE COMBINACIÓN

Los compuestos de la reivindicación 1 se pueden usar solos o en combinación con otros agentes terapéuticos para el tratamiento de una enfermedad o trastorno descritos en el presente documento, tales como un trastorno inmunológico (por ejemplo, psoriasis o inflamación) o un trastorno hiperproliferativo (por ejemplo, cáncer). En ciertas situaciones, un compuesto de la reivindicación 1 se combina en una formulación de combinación farmacéutica o régimen de dosificación como terapia de combinación, con un segundo compuesto terapéutico que tiene propiedades antiinflamatorias o antihiperproliferativas o que es útil para tratar una inflamación, trastorno de respuesta inmune o trastorno hiperproliferativo (por ejemplo, cáncer). El segundo agente terapéutico puede ser un AINE u otro agente antiinflamatorio. El segundo agente terapéutico puede ser un agente quimioterapéutico. El segundo agente terapéutico de la formulación de combinación farmacéutica o régimen de dosificación tiene, preferentemente, actividades complementarias a las del compuesto de la reivindicación 1, de manera que no se afectan adversamente entre sí. Dichos compuestos están adecuadamente presentes en combinación en cantidades que son eficaces para el propósito pretendido.

La terapia de combinación puede administrarse como un régimen simultáneo o secuencial. Cuando se administra de forma secuencial, la combinación puede administrarse en dos o más administraciones. La administración combinada incluye coadministración, usando formulaciones separadas o una única formulación farmacéutica, y administración consecutiva en cualquier orden, en la que, preferentemente, hay un período de tiempo en el que ambos (o todos) los agentes activos ejercen sus actividades biológicas de forma simultánea.

Las dosificaciones adecuadas para cualquiera de los agentes coadministrados anteriores son las que se usan en la actualidad y se pueden disminuir debido a la acción combinada (sinergia) del agente recién identificado y los demás agentes o tratamientos quimioterapéuticos.

La terapia de combinación puede proporcionar "sinergia" y mostrarse "sinérgica", es decir, el efecto conseguido cuando los principios activos se utilizan juntos es mayor que la suma de los efectos resultantes de utilizar los compuestos de forma separada. Se puede conseguir un efecto sinérgico cuando los principios activos se: (1) coformulan y administran, o suministran, de manera simultánea en una formulación de dosificación unitaria; (2) dispensan de manera alternante o en paralelo como formulaciones separadas; o (3) mediante algún otro régimen. Cuando se administran en terapia alternante, puede conseguirse un efecto sinérgico cuando los compuestos se administran o suministran de forma secuencial, por ejemplo, mediante diferentes inyecciones en jeringas distintas. En general, durante la terapia alternante se administra de forma secuencial una dosificación eficaz de cada principio activo, es decir, en serie, mientras que en la terapia de combinación, se administran juntas las dosificaciones eficaces de dos o más principios activos.

Un compuesto de la reivindicación 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se puede combinar con otros

agentes terapéuticos, hormonales o de anticuerpos tales como los descritos en el presente documento, así como combinarse con terapia quirúrgica y radioterapia. Por tanto, las terapias de combinación comprenden la administración de al menos un compuesto de la reivindicación 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y el uso de al menos otro método de tratamiento del cáncer o método de trastorno inmunológico. Las cantidades del(los) compuesto(s) de la reivindicación 1 y el(los) otro(s) agente(s) farmacéuticamente activo(s) y los tiempos relativos de la administración se seleccionarán de modo que se consiga el efecto terapéutico combinado deseado.

También se describe un kit para tratar una enfermedad o trastorno sensible a la inhibición una Janus cinasa. El kit incluye:

una primera composición farmacéutica que comprende un compuesto de la reivindicación 1; e instrucciones de uso.

En otro caso, el kit incluye además:

una segunda composición farmacéutica, que incluye un agente quimioterapéutico.

En un caso, las instrucciones incluyen instrucciones para la administración simultánea, secuencial o separada de dichas primera y segunda composiciones farmacéuticas a un paciente con necesidad de las mismas.

En un caso, la primera y segunda composiciones están contenidas en recipientes separados.

En un caso, la primera y segunda composiciones están contenidas en el mismo recipiente.

Los recipientes para uso incluyen, por ejemplo, botellas, viales, jeringas, envases de blíster, etc. Los recipientes pueden formarse a partir de diversos materiales tales como vidrio o plástico. El recipiente incluye un compuesto de la reivindicación 1 o formulación del mismo que es eficaz para el tratamiento de la afección y puede tener un puerto de acceso estéril (por ejemplo, el recipiente puede ser una bolsa de solución intravenosa o un vial que tiene un tapón perforable por una aguja de inyección hipodérmica). El recipiente incluye una composición que comprende al menos un compuesto de la reivindicación 1. La etiqueta o prospecto indica que la composición se usa para tratar la afección de elección, tal como un cáncer. En un caso, la etiqueta o el prospecto indican que la composición que comprende el compuesto de la reivindicación 1 se puede usar para tratar un trastorno. Además, la etiqueta o el prospecto pueden indicar que el paciente que se va a tratar es uno que tiene un trastorno caracterizado por una actividad de cinasa hiperactiva o irregular. La etiqueta o el prospecto también pueden indicar que la composición se puede usar para tratar otros trastornos.

El artículo de fabricación puede comprender (a) un primer recipiente con un compuesto de la reivindicación 1 contenido en el mismo; y (b) un segundo recipiente con una segunda formulación farmacéutica contenida en el mismo, en el que la segunda formulación farmacéutica comprende un agente quimioterapéutico. El artículo de fabricación en esta situación puede comprender además un prospecto que indique que el primero y el segundo compuestos se pueden usar para tratar pacientes con riesgo de accidente cerebrovascular, trombos o trastorno de trombosis. Como alternativa, o adicionalmente, el artículo de fabricación puede comprender además un segundo (o tercer) envase que comprende un tampón farmacéuticamente aceptable, tal como agua bacteriostática para inyección (BWI), solución salina tamponada con fosfato, disolución de Ringer y solución de dextrosa. Puede incluir además otros materiales deseables desde un punto de vista comercial y de usuario, incluyendo otros tampones, diluyentes, filtros, agujas y jeringas.

Para ilustrar la presente invención, se incluyen los siguientes ejemplos. Sin embargo, debe entenderse que estos ejemplos no limitan la invención y simplemente pretenden sugerir un método de práctica de la invención. Los expertos en la materia reconocerán que pueden usarse métodos alternativos para preparar los compuestos de la reivindicación 1.

EJEMPLOS BIOLÓGICOS

Los compuestos de la reivindicación 1 pueden someterse a ensayo para determinar la capacidad de modular la actividad de las proteínas Janus cinasas, tirosina cinasas, serina/treonina cinasas adicionales y/o las cinasas de doble especificidad *in vitro* e *in vivo*. Los ensayos *in vitro* incluyen ensayos bioquímicos y basados en células que determinan la inhibición de la actividad de la cinasa. Los ensayos alternativos *in vitro* cuantifican la capacidad del compuesto de la reivindicación 1 para unirse a las cinasas y puede medirse mediante radiomarcaje del compuesto de la reivindicación 1 antes de la unión, aislando el compuesto del complejo de la reivindicación 1/cinasa y determinando la cantidad de radiomarcador unido o realizando un experimento de competición en el que se incubaba un compuesto de la reivindicación 1 con ligandos radiomarcados conocidos. Estos y otros ensayos *in vitro* útiles son bien conocidos por los expertos en la materia.

En una realización, los compuestos de la reivindicación 1 se pueden usar para controlar, modular o inhibir la actividad de la tirosina cinasa, por ejemplo la actividad de la proteína Janus cinasa, serina/treonina cinasas

adicionales y/o cinasas de doble especificidad. Por lo tanto, son útiles como patrones farmacológicos para su uso en el desarrollo de nuevas pruebas y ensayos biológicos, y en la búsqueda de nuevos agentes farmacológicos.

EJEMPLO A

5

Protocolo del ensayo de inhibición de JAK1, JAK2 y TYK2

La actividad del dominio de cinasa JAK1, JAK2 o TYK2 aislado se midió mediante monitorización de la fosforilación de un péptido derivado de JAK3 (Val-Ala-Leu-Val-Asp-Gly-Tyr-Phe-Arg-Leu-Thr-Thr) marcado con fluorescencia en el extremo N-terminal con 5-carboxifluoresceína usando la tecnología Caliper LabChip (Caliper Life Sciences, Hopkinton, MA). Para determinar las constantes de inhibición (K_i) de los ejemplos, los compuestos se diluyeron en serie en DMSO y se añadieron a 50 µl de reacciones de cinasa que contenían enzima JAK1 1,5 nM, JAK2 purificada 0,2 nM o TYK2 purificada 1 nM, Hepes 100 mM a pH 7,2, Brij-35 al 0,015 %, sustrato peptídico 1,5 µM, ATP 25 µM, MgCl₂ 10 mM, DTT 4 mM en una concentración final de DMSO de un 2 %. Las reacciones se incubaron a 22 °C en placas de microtitulación de polipropileno de 384 pocillos durante 30 minutos y, a continuación, se detuvieron mediante la adición de 25 µl de una solución que contenía EDTA (Hepes 100 mM a pH 7,2, Brij-35 al 0,015 %, EDTA 150 mM), dando como resultado una concentración final de EDTA de 50 mM. Después de la terminación de la reacción de cinasa, la proporción del producto fosforilado se determinó como una fracción del sustrato peptídico total usando el Caliper LabChip 3000 de acuerdo con las especificaciones del fabricante. A continuación se determinaron los valores de K_i usando el modelo de unión ajustado por Morrison. Morrison, J. F., Biochim. Biophys. Acta. 185:269-296 (1969); William, J. W. y Morrison, J. F., Meth. Enzymol., 63:437-467 (1979).

EJEMPLO B

Protocolo del ensayo de inhibición de JAK3

La actividad del dominio de cinasa JAK3 aislado se midió mediante monitorización de la fosforilación de un péptido derivado de JAK3 (Leu-Pro-Leu-Asp-Lys-Asp-Tyr-Tyr-Val-Val-Arg) marcado con fluorescencia en el extremo N-terminal con 5-carboxifluoresceína usando la tecnología Caliper LabChip (Caliper Life Sciences, Hopkinton, MA). Para determinar las constantes de inhibición (K_i) de los ejemplos 1-508, los compuestos se diluyeron en serie en DMSO y se añadieron a 50 µl de reacciones de cinasa que contenían enzima JAK3 5 nM purificada, Hepes 100 mM a pH 7,2, Brij-35 al 0,015 %, sustrato peptídico 1,5 µM, ATP 5 µM, MgCl₂ 10 mM, DTT 4 mM en una concentración final de DMSO de un 2 %. Las reacciones se incubaron a 22 °C en placas de microtitulación de polipropileno de 384 pocillos durante 30 minutos y, a continuación, se detuvieron mediante la adición de 25 µl de una solución que contenía EDTA (Hepes 100 mM a pH 7,2, Brij-35 al 0,015 %, EDTA 150 mM), dando como resultado una concentración final de EDTA de 50 mM. Después de la terminación de la reacción de cinasa, la proporción del producto fosforilado se determinó como una fracción del sustrato peptídico total usando el Caliper LabChip 3000 de acuerdo con las especificaciones del fabricante. A continuación se determinaron los valores de K_i usando el modelo de unión ajustado por Morrison. Morrison, J. F., Biochim. Biophys. Acta. 185:269-296 (1969); William, J. W. y Morrison, J. F., Meth. Enzymol., 63:437-467(1979).

EJEMPLO C

Ensayos farmacológicos basados en células

45

Las actividades de los compuestos se determinaron en ensayos basados en células que se diseñaron para medir la señalización dependiente de Janus cinasa. Los compuestos se diluyeron en serie en DMSO y se incubaron con células Set-2 (Colección Alemana de Microorganismos y Cultivos Celulares (DSMZ); Braunschweig, Alemania), que expresan la proteína mutante JAK2V617F, en placas de microtitulación de 96 pocillos durante 1 hora a 37 °C en medio RPMI con una densidad celular final de 10⁵ células por pocillo y una concentración final en DMSO de 0,57 %. A continuación se midieron los efectos mediados por el compuesto en la fosforilación de STAT5 en los lisados de las células incubadas usando la tecnología Meso Scale Discovery (MSD) (Gaithersburg, Maryland) de acuerdo con el protocolo del fabricante y se determinaron los valores de CE₅₀. Como alternativa, se añadieron diluidos en serie a las células NK92 (Colección Americana de Cultivos Tipo (ATCC); Manassas, VA) en placas de microtitulación de 96 pocillos en medio RPMI a una densidad celular final de 10⁵ células por pocillo y una concentración final en DMSO de 0,57 %. A continuación se añadió IL-2 o IL-12 recombinante humana (R&D systems; Minneapolis, MN) a una concentración final de 10 ng/ml o 30 ng/ml, respectivamente, a las placas de microtitulación que contenían las células NK92 y el compuesto y las placas se incubaron durante 1 hora a 37 °C. A continuación se midieron los efectos mediados por el compuesto en la fosforilación de STAT5 (mediada por IL-2) o STAT4 (mediada por IL-12) en los lisados de las células incubadas usando la tecnología Meso Scale Discovery (MSD) (Gaithersburg, Maryland) de acuerdo con el protocolo del fabricante y se determinaron los valores de CE₅₀.

EJEMPLOS PREPARATIVOSAbreviaturas

CD ₃ OD	Metanol deuterado
CDCl ₃	Cloroformo deuterado
DAST	Trifluoruro de dietilaminoazufre
DCM	Diclorometano
DIPEA	Diisopropiletilamina
DMAP	4-Dimetilaminopiridina
DMF	Dimetilformamida
DMF-DMA	N,N-Dimetilformamida Dimetilacetal
DMSO	Dimetilsulfóxido
DMSO-d ₆	DMSO deuterado
DME	1,2-Dimetoxietano
DMF	Dimetilformamida
DPPA	Difenilfosforil azida
EtOAc	Acetato de etilo
EtOH	Etanol
HOAc	Ácido acético
g	gramo
HATU	(Hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio)
HCl	Ácido clorhídrico
Hex	Hexano
HM-N	Isolute® HM-N es una forma modificada de tierra de diatomeas
IMS	licores metilados industriales
l	litro
MeOH	Metanol
mg	miligramo
ml	mililitro
POCl ₃	Oxicloruro de fósforo
NaH	Hidruro sódico
Na ₂ SO ₄	Sulfato sódico
NaHCO ₃	Bicarbonato sódico
NaOH	Hidróxido sódico
Pd(PPh ₃) ₄	Tetraquis(trifenilfosfina)paladio (0)
PyAOP	Hexafluorofosfato de (7-azabenzotriazol-1-iloxi)tripirrolidinofosfonio
Reactivo de Lawesson	de 2,4-Disulfuro de 2,4-bis(4-metoxifenil)-1,3-ditia-2,4-difosfetano
NEt ₃	Trietilamina
Pd ₂ dba ₃	Tris-(dibencilidenoacetona)dipaladio (0)
Si-SPE	Cartucho de cromatografía ultrarrápida de sílice preempaquetado Isolute®
Si-ISCO	Cartucho de cromatografía ultrarrápida de sílice preempaquetado ISCO®
THF	Tetrahidrofurano
SEM	2-(trimetilsilil)etoximetilo
SEMCI	cloruro de 2-(trimetilsilil)etoximetilo
TEA	Trietilamina
TFA	Ácido trifluoroacético

5

Condiciones experimentales generales

Se registraron espectros de RMN ¹H a temperatura ambiente usando un espectrómetro Varian Unity Inova (400 MHz) con una sonda de 5 mm de triple resonancia, un espectrómetro Bruker AVIII (400 MHz) usando una sonda de 5 mm BBI (del inglés Broad Band Inverse (banda ancha inversa)), un espectrómetro Bruker Avance DRX400 (400 MHz) con una sonda de 5 mm de triple resonancia o un espectrómetro Bruker AVIII (500 MHz) usando una sonda de 5 mm QNP (del inglés Quad Nucleus detect (sonda detectora de cuatro núcleos)). Los desplazamientos químicos se expresan en ppm en relación a tetrametilsilano. Se han usado las siguientes abreviaturas: a = señal ancha, s = singlete, d = doblete, dd = doblete doble, t = triplete, c = cuádruplete, m = multiplete.

15

Se realizaron experimentos de cromatografía líquida de alta presión - espectrometría de masas (CLEM) para determinar los tiempos de retención (TR) e iones de masas asociadas usando uno de los siguientes procedimientos.

20

Procedimiento A: Se realizaron experimentos en un espectrómetro de masas cuadrupolar Waters Micromass ZQ unido a un sistema de CL Hewlett Packard HP1100 con detector de matriz de diodos. Este sistema usa una columna C18 de 100 x 3,0 mm, 5 micrómetros, Higgins Clipseus y un caudal de 1 ml/minuto. El sistema de disolventes inicial fue agua al 95 % que contenía ácido fórmico al 0,1 % (disolvente A) y acetonitrilo al 5 % que contenía ácido fórmico

al 0,1 % (disolvente B) durante el primer minuto, seguido de un gradiente hasta disolvente A al 5 % y disolvente B al 95 % durante los siguientes 14 minutos. El sistema de disolventes final se mantuvo constante durante 5 minutos más.

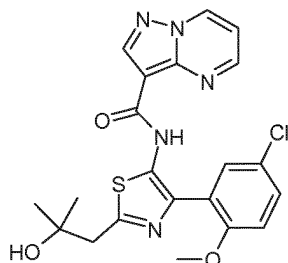
- 5 Procedimiento B: Se realizaron experimentos en un espectrómetro de masas cuadrupolar Waters Platform LC unido a un sistema de CL Hewlett Packard HP1100 con detector de matriz de diodos y un automuestreador de 100 posiciones usando una columna C18(2) 30 x 4,6 mm Phenomenex Luna y un caudal de 2 ml/minuto. El sistema de disolventes fue agua al 95 % que contenía ácido fórmico al 0,1 % (disolvente A) y acetonitrilo al 5 % que contenía ácido fórmico al 0,1 % (disolvente B) durante los primeros 0,50 minutos, seguido de un gradiente hasta disolvente A al 5 % y disolvente B al 95 % durante los siguientes 4 minutos. El sistema de disolventes final se mantuvo constante durante 0,50 minutos más.

Se usó cromatografía líquida preparativa de alta presión (HPLC) para purificar determinados compuestos. El sistema usado fue un Varian LC equipado con un colector de fracciones accionado por UV automatizado y una columna Gemini NX (3 x 10 cm). La fase móvil fue un gradiente de 5-85 % de acetonitrilo en agua, que contenía 0,1 % de ácido fórmico o hidróxido de amonio, durante 10 minutos.

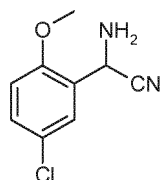
Se usó cromatografía quiral de fluidos supercríticos (SFC) para separar algunos compuestos racémicos en sus enantiómeros constituyentes. El sistema usado fue un Berger Pronto SFC equipado con un colector de fracciones accionado por UV automatizado. Chiral Technologies AD, OD, OJ o AS (21,2 x 250 mm) son ejemplos de las columnas usadas. Las duraciones de ejecución variaron de 5-10 minutos y se usó una fase móvil isocrática que consistía en 5-50 % de MeOH:dióxido de carbono.

Se realizaron experimentos de microondas usando un Biotage Initiator 60™ que usa un resonador monomodo y ajuste dinámico de campo. Puede conseguirse una temperatura de 40-250 °C y pueden alcanzarse presiones de hasta 30 bar.

EJEMPLO 1

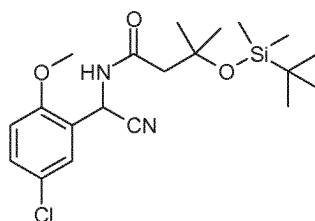


N-(4-(5-cloro-2-metoxifenil)-2-(2-hidroxi-2-metilpropil)tiazol-5-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida



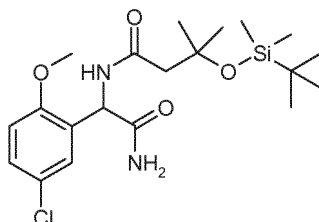
2-amino-2-(5-cloro-2-metoxifenil)acetonitrilo

Una solución de 5-cloro-2-metoxi-benzaldehído (preparada de acuerdo con la patente US4602035) (2,04 g, 12,0 mmol) en metanol (80 ml) se añadió a una solución agitada de cianuro sódico (0,90 g) y cloruro de amonio (1,50 g) en hidróxido de amonio acuoso (solución al 33 %, 30 ml) a 0 °C, después se calentó a temperatura ambiente durante 18 horas. La mezcla se evaporó a sequedad, los residuos se repartieron entre DCM y agua, los materiales orgánicos se separaron, se lavaron con salmuera y se evaporaron al vacío para proporcionar 2,21 g (94 %) de 2-amino-2-(5-cloro-2-metoxifenil)acetonitrilo en forma de un aceite de color naranja. CLEM (IEN) m+H = 197,2.



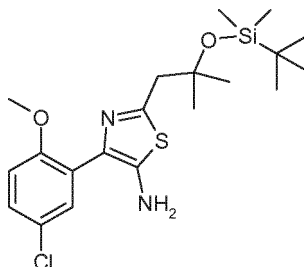
3-(terc-butildimetilsililoxi)-N-((5-cloro-2-metoxifenil)(ciano)metil)-3-metilbutanamida

Se añadió 2-amino-2-(5-cloro-2-metoxifenil)acetonitrilo (500 mg, 2,54 mmol) en DMF (2 ml) a una solución de ácido 3-(terc-butildimetilsililoxi)-3-metil-butírico (preparada de acuerdo con la patente EP2025667) (590 mg, 2,54 mmol), diisopropiletilamina (0,87 ml, 5,08 mmol) y HATU (966 mg, 2,54 mmol) en DMF (5 ml) y se agitó durante 18 horas. Se añadió acetato de etilo, los materiales orgánicos se lavaron con hidrogenocarbonato sódico (ac. sat.) y salmuera, después se evaporaron a sequedad. Los residuos se purificaron por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (acetato de etilo del 0 al 5 % en diclorometano) para producir 740 mg (73 %) de 3-(terc-butildimetilsililoxi)-N-((5-cloro-2-metoxifenil)(ciano)metil)-3-metilbutanamida. CLEM (IEN) m+H = 411,4.



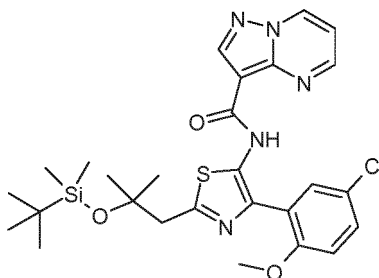
N-(2-amino-1-(5-cloro-2-metoxifenil)-2-oxoetil)-3-(terc-butildimetilsililoxi)-3-metilbutanamida

Se añadió peróxido de hidrógeno (ac. al 50 %, 413 µl) a una solución de 3-(terc-butildimetilsililoxi)-N-((5-cloro-2-metoxifenil)(ciano)metil)-3-metilbutanamida (740 mg, 1,80 mmol) y carbonato potásico (609 mg, 4,41 mmol) en DMSO (4 ml) y se agitó durante 18 horas. Se añadió acetato de etilo, los materiales orgánicos se lavaron con agua y salmuera, después se evaporaron a sequedad para dar 667 mg (86 %) de N-(2-amino-1-(5-cloro-2-metoxifenil)-2-oxoetil)-3-(terc-butildimetilsililoxi)-3-metilbutanamida en forma de un sólido de color blanco. CLEM (IEN) m+H = 429,3.



2-(2-(terc-butildimetilsililoxi)-2-metilpropil)-4-(5-cloro-2-metoxifenil)tiazol-5-amina

Una mezcla de N-(2-amino-1-(5-cloro-2-metoxifenil)-2-oxoetil)-3-(terc-butildimetilsililoxi)-3-metilbutanamida (327 mg, 0,76 mmol), reactivo de Lawesson (308 mg, 0,76 mmol) y piridina (2,5 ml) se calentó a 95 °C durante 18 horas. Se añadió DCM, los materiales orgánicos se lavaron con hidrogenocarbonato sódico (ac. sat.) y salmuera, después se evaporaron a sequedad. Los residuos se purificaron por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (DCM) para proporcionar 107 mg (33 %) de 2-(2-(terc-butildimetilsililoxi)-2-metilpropil)-4-(5-cloro-2-metoxifenil)tiazol-5-amina. CLEM (IEN) m+H = 427,3.

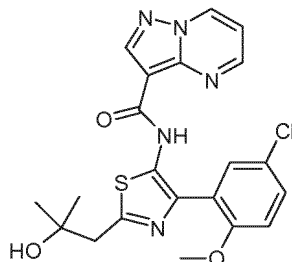


N-(2-(2-(terc-butildimetilsililoxi)-2-metilpropil)-4-(5-cloro-2-metoxifenil)tiazol-5-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida

Una solución de cloruro de pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carbonilo (52,0 mg, 0,29 mmol), 2-(2-(terc-butildimetilsililoxi)-2-metilpropil)-4-(5-cloro-2-metoxifenil)tiazol-5-amina (103 mg, 0,24 mmol) y piridina (2 ml) se agitó a 60 °C durante 2 horas, después a temperatura ambiente durante 72 horas más. Se añadió DCM, los materiales orgánicos se lavaron con agua, hidrogenocarbonato sódico (ac. sat.) y salmuera, después se evaporaron a sequedad. Los residuos se purificaron por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (acetato de etilo del 0 al 20 % en diclorometano) para

producir 90,6 mg (66 %) de N-(2-(2-(terc-butildimetilsililo)-2-metilpropil)-4-(5-cloro-2-metoxifenil)tiazol-5-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida en forma de un sólido de color amarillo. CLEM (IEN) m+H = 572,1; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 10,45 (s a, 1H); 9,38 (dd, 1H); 8,76 (s, 1H); 8,73-8,72 (m, 1H); 7,51 (dd, 1H); 7,45 (d, 1H); 7,35 (d, 1H); 7,31 (d, 1H); 3,79 (s, 3H); 3,06 (s, 2H); 1,32 (s, 6H); 0,90 (s, 9H); 0,11 (s, 6H).

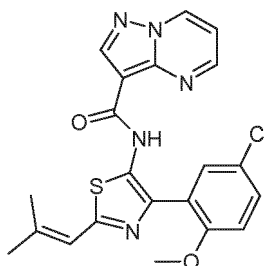
5



N-(4-(5-cloro-2-metoxifenil)-2-(2-hidroxi-2-metilpropil)tiazol-5-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida

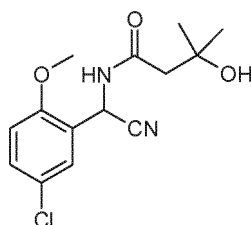
- 10 Una solución de N-(2-(2-(terc-butildimetilsililo)-2-metilpropil)-4-(5-cloro-2-metoxifenil)tiazol-5-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida (20 mg, 35,0 μmol) en ácido trifluoroacético (3 ml) se agitó durante 7 días a temperatura ambiente. La reacción se evaporó al vacío y el producto en bruto se purificó por HPLC de fase inversa, después se liofilizó para proporcionar 11,3 mg (71 %) de N-(4-(5-cloro-2-metoxifenil)-2-(2-hidroxi-2-metilpropil)tiazol-5-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida en forma de un sólido de color blanco. CLEM (IEN) m+H = 458,0; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 10,43 (s a, 1H); 9,38 (dd, 1H); 8,74 (dd, 1H); 8,73 (s, 1H); 7,51 (dd, 1H); 7,46 (d, 1H); 7,35 (s, 1H); 7,32-7,31 (m, 1H); 4,76 (s, 1H); 3,79 (s, 3H); 3,01 (s, 2H); 1,19 (s, 6H).
- 15

EJEMPLO 2



20

N-(4-(5-cloro-2-metoxifenil)-2-(2-metilprop-1-enil)tiazol-5-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida

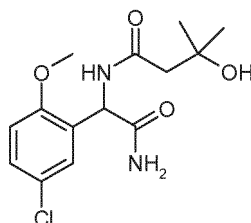


25

N-((5-cloro-2-metoxifenil)(ciano)metil)-3-hidroxi-3-metilbutanamida

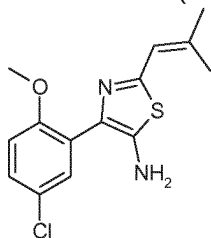
Usando amino-(5-cloro-2-metoxi-fenil)-acetonitrilo y ácido 3-hidroxi-3-metil-butírico, el compuesto del título se sintetizó siguiendo los procedimientos sintéticos descritos para 3-(terc-butildimetilsililo)-N-((5-cloro-2-metoxifenil)(ciano)metil)-3-metilbutanamida para dar N-((5-cloro-2-metoxifenil)(ciano)metil)-3-hidroxi-3-metilbutanamida. CLEM (IEN) m+H = 297,1.

30



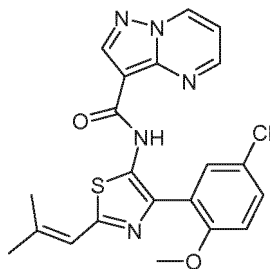
35 N-(2-amino-1-(5-cloro-2-metoxifenil)-2-oxoetil)-3-hidroxi-3-metilbutanamida

Usando N-((5-cloro-2-metoxifenil)(ciano)metil)-3-hidroxi-3-metilbutanamida, el compuesto del título se sintetizó siguiendo los procedimientos sintéticos descritos para N-(2-amino-1-(5-cloro-2-metoxifenil)-2-oxoetil)-3-(terc-butildimetilsililoxi)-3-metilbutanamida para dar N-(2-amino-1-(5-cloro-2-metoxifenil)-2-oxoetil)-3-hidroxi-3-metilbutanamida en forma de una goma de color amarillo. CLEM (IEN) $m+Na = 337,4$.



4-(5-cloro-2-metoxifenil)-2-(2-metilprop-1-enil)tiazol-5-amina

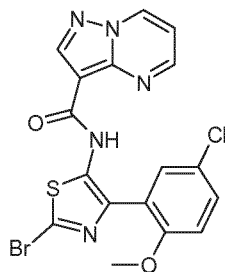
Una mezcla de N-(2-amino-1-(5-cloro-2-metoxifenil)-2-oxoetil)-3-hidroxi-3-metilbutanamida (240 mg, 0,762 mmol), reactivo de Lawesson (308 mg, 0,76 mmol) y piridina (2,5 ml) se calentó a 100 °C durante 18 horas. Después de un periodo de refrigeración, se añadió DCM y la mezcla se lavó con agua, hidrógeno carbamato sódico (ac. sat.) y salmuera, y se concentró a sequedad. Se aisló 4-(5-cloro-2-metoxifenil)-2-(2-metilprop-1-enil)tiazol-5-amina (51,0 mg) en forma de un sólido de color amarillo pálido. CLEM (IEN) $m+H = 295,3$; RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6): δ 7,38 (d, 1H); 7,31 (dd, 1H); 7,09 (d, 1H); 6,24 (t, 1H); 5,50 (s a, 2H); 3,83 (s, 3H); 2,02 (d, 3H); 1,89 (s, 3H).



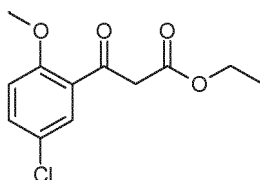
N-(4-(5-cloro-2-metoxifenil)-2-(2-metilprop-1-enil)tiazol-5-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida

Usando 4-(5-cloro-2-metoxifenil)-2-(2-metilprop-1-enil)tiazol-5-amina y cloruro de pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carbonilo, el compuesto del título se sintetizó siguiendo los procedimientos sintéticos descritos para N-(2-(2-(terc-butildimetilsililoxi)-2-metilpropil)-4-(5-cloro-2-metoxifenil)tiazol-5-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida con purificación adicional por HPLC de fase inversa y se liofilizó para dar N-(4-(5-cloro-2-metoxifenil)-2-(2-metilprop-1-enil)tiazol-5-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida. CLEM (IEN) $m+H = 440,0$; RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6): δ 10,50 (s a, 1H); 9,39 (dd, 1H); 8,74 (d, 1H); 8,73 (s, 1H); 7,54 (dd, 1H); 7,49 (d, 1H); 7,37 (d, 1H); 7,34 (dd, 1H); 6,47 (t, 1H); 3,80 (s, 3H); 2,16 (s, 3H); 1,97 (s, 3H).

EJEMPLO 3

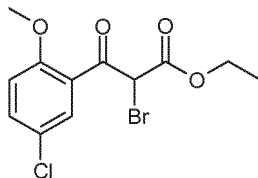


N-(2-bromo-4-(5-cloro-2-metoxifenil)tiazol-5-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida



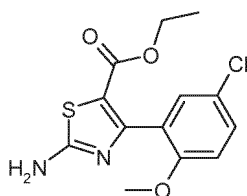
3-(5-cloro-2-metoxifenil)-3-oxopropanoato de etilo

Se añadió en porciones hidruro sódico (dispersión al 60 % en aceite mineral, 2,17 g, 54,2 mmol) a una solución agitada de 1-(5-cloro-2-metoxi-fenil)-etanona (10,0 g, 54,2 mmol) en THF (100 ml) a 0 °C. Después, la mezcla se agitó durante 10 minutos antes de la adición de carbonato de dietilo (7,68 g, 65,0 mmol) y después durante 1 hora más. La mezcla se calentó a temperatura ambiente durante 2 horas y después se calentó a 65 °C durante 2 horas. Se añadió éter dietílico, los materiales orgánicos se lavaron con agua y salmuera, después se evaporaron a sequedad. Los residuos se purificaron por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (diclorometano del 50 al 100 % en ciclohexano) para producir 3,41 g de 3-(5-cloro-2-metoxifenil)-3-oxopropanoato de etilo. CLEM (IEN) m+H = 257,2; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 7,59 (d, 1H); 7,38 (dd, 1H); 6,89 (d, 1H); 4,18 (c, 2H); 3,95 (s, 2H); 3,88 (s, 3H); 1,24 (t, 3H).



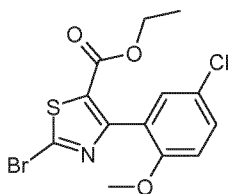
2-bromo-3-(5-cloro-2-metoxifenil)-3-oxopropanoato de etilo

Se añadió bromo (0,70 ml, 13,6 mmol) a una solución de 3-(5-cloro-2-metoxifenil)-3-oxopropanoato de etilo (3,39 g, 13,2 mmol) en dioxano (25 ml) y se agitó durante 1 hora. La reacción se vertió en agua enfriada con hielo, se extrajo con acetato de etilo, los materiales orgánicos se lavaron con agua y salmuera y se evaporaron a sequedad para dar 2-bromo-3-(5-cloro-2-metoxifenil)-3-oxopropanoato de etilo. CLEM (IEN) m+H = 337,2.



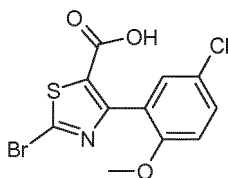
2-amino-4-(5-cloro-2-metoxifenil)tiazol-5-carboxilato de etilo

Una mezcla de 2-bromo-3-(5-cloro-2-metoxifenil)-3-oxopropanoato de etilo (asumida que era 13,2 mmol) y tiourea (1,01 g, 13,3 mmol) en etanol (25 ml) se calentaron a reflujo durante 3 horas, después se enfriaron a temperatura ambiente durante 18 horas. El sólido resultante se retiró por filtración y el filtrado se evaporó al vacío. Se añadió DCM al residuo, los materiales orgánicos se lavaron con hidrogenocarbonato sódico (ac. sat.), agua y salmuera, y se evaporaron a sequedad. El residuo se trituyó (DCM) para dar 1,30 g (31 %) de 2-amino-4-(5-cloro-2-metoxifenil)tiazol-5-carboxilato de etilo en forma de un sólido de color amarillo. CLEM (IEN) m+H = 313,2. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,77 (s a, 2H); 7,39 (dd, 1H); 7,22 (d, 1H); 7,05 (d, 1H); 4,00 (c, 2H); 3,70 (s, 3H); 1,04 (t, 3H).



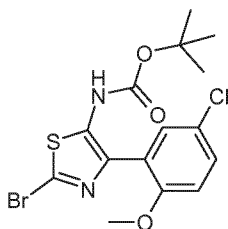
2-bromo-4-(5-cloro-2-metoxifenil)tiazol-5-carboxilato de etilo

Se desgasificó bromuro de cobre (1,07 g, 4,79 mmol) en acetonitrilo (20 ml) con nitrógeno y se enfrió a 0 °C antes de la adición de nitrito de terc-butilo (0,80 ml, 6,00 mmol), después se añadió una suspensión de 2-amino-4-(5-cloro-2-metoxifenil)tiazol-5-carboxilato de etilo (1,25 g, 3,99 mmol) en acetonitrilo (20 ml) y se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas. La reacción se concentró al vacío, se añadió acetato de etilo, los materiales orgánicos se lavaron con hidrogenocarbonato sódico (ac. sat.) y salmuera, después se evaporaron a sequedad para dar 1,40 g (93 %) de 2-bromo-4-(5-cloro-2-metoxifenil)tiazol-5-carboxilato de etilo. CLEM (IEN) m+H = 378,1. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,50 (dd, 1H); 7,42 (d, 1H); 7,14 (d, 1H); 4,16 (c, 2H); 3,73 (s, 3H); 1,12 (t, 3H).



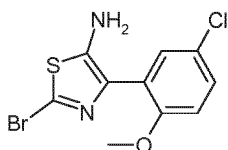
ácido 2-bromo-4-(5-cloro-2-metoxifenil)thiazol-5-carboxílico

Una mezcla de 2-bromo-4-(5-cloro-2-metoxifenil)thiazol-5-carboxilato de etilo (1,40 g, 3,72 mmol), hidróxido potásico (278 mg) en THF (40 ml) y agua (10 ml) se agitó durante 20 horas a temperatura ambiente. La mezcla se trató con HCl ac. 1 M (aprox. 8 ml, 2 equiv.), se añadió DCM y los materiales orgánicos se separaron y se evaporaron a sequedad para dar 1,23 g (95 %) de ácido 2-bromo-4-(5-cloro-2-metoxifenil)thiazol-5-carboxílico en forma de un sólido de color amarillo. CLEM (IEN) m+H = 350,1. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,47 (dd, 1H); 7,39 (d, 1H); 7,13 (d, 1H); 3,73 (s, 3H).



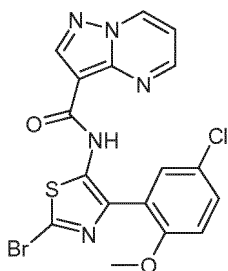
2-bromo-4-(5-cloro-2-metoxifenil)thiazol-5-ilcarbamato de terc-butilo

Se agitaron ácido 2-bromo-4-(5-cloro-2-metoxifenil)thiazol-5-carboxílico (1,22 g, 3,50 mmol), difenilfosforil azida (963 mg, 3,50 mmol) y trietilamina (354 mg, 3,50 mmol) en terc-butanol (30 ml) a 85 °C durante 4 horas. Después de un periodo de refrigeración, la reacción se repartió entre acetato de etilo y agua, los materiales orgánicos se separaron, después se lavaron con salmuera y se evaporaron a sequedad. Los residuos resultantes se purificaron por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (diclorometano del 50 al 100 % en ciclohexano) para producir 970 mg (66 %) de 2-bromo-4-(5-cloro-2-metoxifenil)thiazol-5-ilcarbamato de terc-butilo. CLEM (IEN) m+H = 421,2; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,43 (dd, 1H); 7,30 (d, 1H); 7,11 (d, 1H); 3,77 (s, 3H); 1,45 (s, 9H).



2-bromo-4-(5-cloro-2-metoxifenil)thiazol-5-amina

Se añadió TFA (4,0 ml) a una solución de 2-bromo-4-(5-cloro-2-metoxifenil)thiazol-5-ilcarbamato de terc-butilo (360 mg, 0,86 mmol) en DCM (10 ml) y agua (3 gotas). La mezcla de reacción se agitó durante 1,5 horas a temperatura ambiente y después se evaporó a sequedad. El residuo se recogió en DCM y se lavó con hidrogenocarbonato sódico (ac. sat.), agua y salmuera, y se concentró al vacío para dar 2-bromo-4-(5-cloro-2-metoxifenil)thiazol-5-amina en forma de un residuo de color naranja. CLEM (IEN) m+H = 321,3. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,36 (d, 1H); 7,34-7,32 (m, 1H); 7,10 (d, 1H); 3,83 (s, 3H).

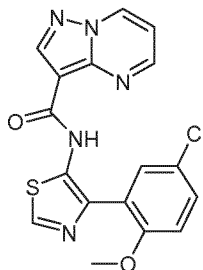


N-(2-bromo-4-(5-cloro-2-metoxifenil)thiazol-5-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida

Usando 2-bromo-4-(5-cloro-2-metoxifenil)thiazol-5-amina y cloruro de pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carbonilo se preparó el compuesto del título siguiendo los procedimientos sintéticos descritos para N-(2-(2-(terc-butildimetilsililo)-2-metilpropil)-4-(5-cloro-2-metoxifenil)thiazol-5-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida con purificación adicional por

cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (acetato de etilo del 0 al 40 % en DCM) para dar N-(2-bromo-4-(5-cloro-2-metoxifenil)tiazol-5-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida. CLEM (IEN) m+H = 465,8. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 10,68 (s a, 1H); 9,41 (dd, 1H); 8,78 (s, 1H); 8,76 (dd, 1H); 7,57 (dd, 1H); 7,50 (d, 1H); 7,37-7,34 (m, 2H); 3,81 (s, 3H).

5

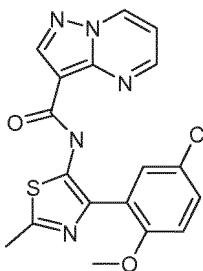
EJEMPLO 4

10 N-(4-(5-cloro-2-metoxifenil)tiazol-5-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida

Se cerraron herméticamente N-(2-bromo-4-(5-cloro-2-metoxifenil)tiazol-5-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida (50,0 mg, 0,11 mmol), Pd(PPh₃)₄ (6,20 mg, 5,35 μmol), formiato sódico (10,9 mg, 0,16 mmol) y DMF (0,5 ml), en una atmósfera de nitrógeno, en un vial de microondas y se calentaron a 130 °C durante 10 minutos usando irradiación de microondas. La reacción se enfrió, después se añadió DCM y los materiales orgánicos se lavaron con hidrogenocarbonato sódico (ac. sat.), agua y salmuera, se secaron y se evaporaron a sequedad. Los residuos se purificaron por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (acetato de etilo del 0 al 40 % en DCM), después se purificaron adicionalmente por HPLC de fase inversa y se liofilizaron para dar 11,1 mg (27 %) de N-(4-(5-cloro-2-metoxifenil)tiazol-5-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida en forma de un sólido de color beige. CLEM (IEN) m+H = 386,0. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 10,56 (s, 1H); 9,39 (dd, 1H); 8,74-8,73 (m, 3H); 7,55 (dd, 1H); 7,49 (d, 1H); 7,37 (d, 1H); 7,34 (dd, 1H); 3,80 (s, 3H).

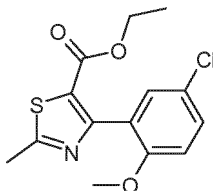
15

20

EJEMPLO 5

25

N-(4-(5-cloro-2-metoxifenil)-2-metiltiazol-5-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida

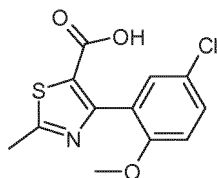


30

4-(5-cloro-2-metoxifenil)-2-metiltiazol-5-carboxilato de etilo

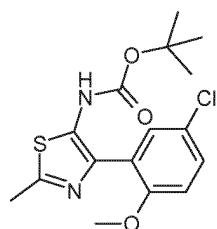
Usando éster etílico del ácido 2-bromo-3-(5-cloro-2-metoxi-fenil)-3-oxo-propiónico y tioacetamida, el compuesto del título se preparó siguiendo los procedimientos sintéticos descritos para 2-amino-4-(5-cloro-2-metoxifenil)tiazol-5-carboxilato de etilo con purificación adicional por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (DCM del 50 al 100 % en ciclohexano) para dar 4-(5-cloro-2-metoxifenil)-2-metiltiazol-5-carboxilato de etilo. CLEM (IEN) m+H = 321,4; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 7,38 (d, 1H); 7,33 (dd, 1H); 6,87 (d, 1H); 4,20 (c, 2H); 3,75 (s, 3H); 2,76 (s, 3H); 1,20 (t, 3H).

35



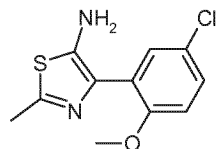
ácido 4-(5-cloro-2-metoxifenil)-2-metiltiazol-5-carboxílico

- 5 Una mezcla de 4-(5-cloro-2-metoxifenil)-2-metiltiazol-5-carboxilato de etilo (520 mg, 1,67 mmol) e hidróxido potásico (125 mg) en THF (18 ml) y agua (4,5 ml) se agitó durante 20 horas a temperatura ambiente y después a 75 °C durante a 8 horas más. La solución se trató con HCl ac. 1 M (pH 2) y se extrajo con DCM. Los extractos orgánicos se evaporaron a sequedad para dar 450 mg (95 %) de ácido 4-(5-cloro-2-metoxifenil)-2-metiltiazol-5-carboxílico en forma de un sólido de color blanco. CLEM (IEN) m+H = 284,3; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,43 (dd, 1H); 7,31 (d, 1H); 7,10 (d, 1H); 3,71 (s, 3H); 2,69 (s, 3H).



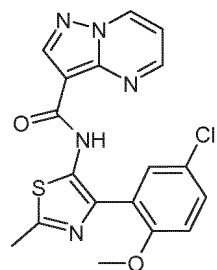
4-(5-cloro-2-metoxifenil)-2-metiltiazol-5-ilcarbamato de terc-butilo

- 15 Usando ácido 4-(5-cloro-2-metoxifenil)-2-metiltiazol-5-carboxílico, el compuesto del título se preparó siguiendo los procedimientos sintéticos descritos para 2-bromo-4-(5-cloro-2-metoxifenil)thiazol-5-ylcarbamate de terc-butilo para dar 4-(5-cloro-2-metoxifenil)-2-metiltiazol-5-ilcarbamato de terc-butilo. CLEM (IEN) m+H = 355,3; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,40 (dd, 1H); 7,32 (d, 1H); 7,11 (d, 1H); 3,77 (s, 3H); 2,55 (s, 3H); 1,42 (s, 9H).



4-(5-cloro-2-metoxifenil)-2-metiltiazol-5-amina

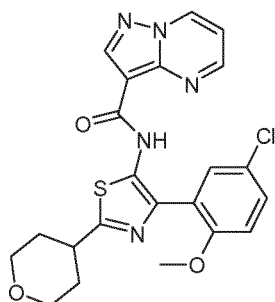
- 25 Se añadió TFA (4,0 ml) a una solución de 4-(5-cloro-2-metoxifenil)-2-metiltiazol-5-ilcarbamato de terc-butilo (315 mg, 0,89 mmol) en DCM (10 ml) y agua (3 gotas). La mezcla de reacción se agitó durante 1,5 horas a temperatura ambiente, después se evaporó a sequedad para dar 215 mg (95 %) de 4-(5-cloro-2-metoxifenil)-2-metiltiazol-5-amina en forma de un sólido de color amarillo. CLEM (IEN) m+H = 255,2.



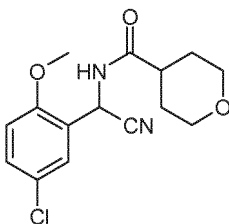
N-(4-(5-cloro-2-metoxifenil)-2-metiltiazol-5-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida

- 35 Usando 4-(5-cloro-2-metoxifenil)-2-metiltiazol-5-amina y cloruro de pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carbonilo, el compuesto del título se sintetizó siguiendo los procedimientos sintéticos descritos para N-(2-(2-(terc-butildimetilsililoxi)-2-metilpropil)-4-(5-cloro-2-metoxifenil)thiazol-5-yl)pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-3-carboxamide con purificación adicional por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (acetato de etilo del 0 al 100 % en DCM) para dar N-(4-(5-cloro-2-metoxifenil)-2-metiltiazol-5-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida en forma de un sólido de color naranja. CLEM (IEN) m+H = 400,0; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 10,43 (s a, 1H); 9,38 (dd, 1H); 8,75-8,73 (m, 1H); 8,72 (s, 1H); 7,52 (dd, 1H); 7,47 (d, 1H); 7,34-7,32 (m, 2H); 3,79 (s, 3H); 2,62 (s, 3H).

EJEMPLO 6

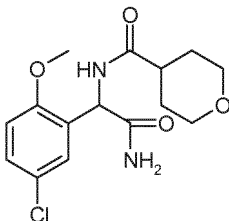


5 N-(4-(5-cloro-2-metoxifenil)-2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)tiazol-5-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida



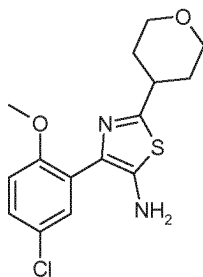
10 N-((5-cloro-2-metoxifenil)(ciano)metil)tetrahidro-2H-piran-4-carboxamida

Usando amino-(5-cloro-2-metoxi-fenil)-acetonitrilo y ácido tetrahidro-2H-piran-4-carboxílico, el compuesto del título se preparó siguiendo los procedimientos sintéticos descritos para 3-(terc-butildimetilsililo)-N-((5-cloro-2-metoxifenil)(ciano)metil)-3-metilbutanamida para dar N-((5-cloro-2-metoxifenil)(ciano)metil)tetrahidro-2H-piran-4-carboxamida en forma de un sólido de color blanco. CLEM (IEN) m+H = 309,3.



N-(2-amino-1-(5-cloro-2-metoxifenil)-2-oxoetil)tetrahidro-2H-piran-4-carboxamida

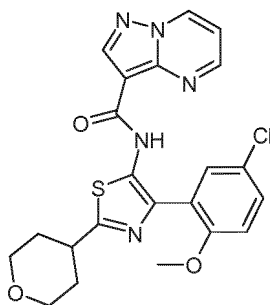
20 Usando N-((5-cloro-2-metoxifenil)(ciano)metil)tetrahidro-2H-piran-4-carboxamida, el compuesto del título se preparó siguiendo los procedimientos sintéticos descritos para N-(2-amino-1-(5-cloro-2-metoxifenil)-2-oxoetil)-3-(terc-butildimetilsililo)-3-metilbutanamida para dar N-(2-amino-1-(5-cloro-2-metoxifenil)-2-oxoetil)tetrahidro-2H-piran-4-carboxamida en forma de un sólido de color blanco. CLEM (IEN) m+H = 327,3; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ 8,30 (d a, 1H); 7,31-7,31 (m, 2H); 7,24 (s a, 1H); 7,13 (s a, 1H); 7,05-7,01 (d, 1H); 5,62 (d, 1H); 3,91-3,81 (m, 2H); 3,79 (s, 3H); 3,30-3,24 (m, 2H); 2,55-2,54 (m, 1H); 1,56-1,55 (m, 4H).



30 4-(5-cloro-2-metoxifenil)-2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)tiazol-5-amina

Usando N-(2-amino-1-(5-cloro-2-metoxifenil)-2-oxoetil)tetrahidro-2H-piran-4-carboxamida, el compuesto del título se preparó siguiendo los procedimientos sintéticos descritos para 2-(2-(terc-butildimetilsililo)-2-metilpropil)-4-(5-cloro-2-metoxifenil)tiazol-5-amina para dar 4-(5-cloro-2-metoxifenil)-2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)tiazol-5-amina en forma de

una goma de color blanco. CLEM (IEN) m+H = 325,2; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,38 (d, 1H); 7,31 (dd, 1H); 7,09 (d, 1H); 5,31 (s a, 2H); 3,90 (d, 2H); 3,84 (s, 3H); 3,43 (m, 2H); 3,04-2,99 (m, 1H); 1,90 (d, 2H); 1,66-1,66 (m, 2H).



N-(4-(5-cloro-2-metoxifenil)-2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)thiazol-5-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida

Usando N-(2-amino-1-(5-cloro-2-metoxifenil)-2-oxoetil)tetrahidro-2H-piran-4-carboxamida, el compuesto del título se preparó siguiendo los procedimientos sintéticos descritos para N-(2-(2-(terc-butildimetilsililoxi)-2-metilpropil)-4-(5-cloro-2-metoxifenil)thiazol-5-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida con purificación adicional mediante tritución en éter dietílico para dar N-(4-(5-cloro-2-metoxifenil)-2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)thiazol-5-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida. CLEM (IEN) m+H = 470,0; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 10,44 (s a, 1H); 9,38 (dd, 1H); 8,75 (dd, 1H); 8,73 (s, 1H); 7,52 (dd, 1H); 7,46 (d, 1H); 7,35 (d, 1H); 7,32-7,31 (m, 1H); 3,95-3,94 (m, 2H); 3,80 (s, 3H); 3,47 (m, 2H); 3,23 (m, 1H); 2,00 (dd, 2H); 1,77 (m, 2H).

Los compuestos de los Ejemplos 1-6 se analizaron en los ensayos anteriores (Ejemplos A-C) y se encontró que tenían valores de K_i menores que aproximadamente 1 μM para inhibir una o ambas de las cinasas JAK1 y JAK2. Los compuestos de los Ejemplos 1-6 se analizaron en los ensayos anteriores (Ejemplos A-C) y se descubrió que tenían valores de K_i de menos de aproximadamente 1 μM para inhibir la cinasa JAK1.

La Tabla 3 siguiente muestra datos de actividad enzimática (K_i, μM), un compuesto de la presente invención ejecutado en los ensayos anteriores Ejemplos A-C).

Tabla 3

Ejemplo	JAK1	JAK2	JAK3	TYK2,
5	0,0007	0,0004	0,0130	0,0021

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> GENENTECH, INC.

<120> COMPUESTOS DE PIRAZOLOPIRIMIDINA INHIBIDORES DE JAK Y MÉTODOS

<130> SRB/FP6806707

<140> EP 10794815.0

<141> 2010-07-02

<150> PCT/US2010/040906

<151> 2010-07-02

<150> US 61/222, 918

<151> 2009-07-02

<160> 2

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

ES 2 657 839 T3

<400> 1

Val Ala Leu Val Asp Gly Tyr Phe Arg Leu Thr Thr
1 5 10

5 <210> 2
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

10 <400> 2

Leu Pro Leu Asp Lys Asp Tyr Tyr Val Val Arg
1 5 10

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto seleccionado entre:

- 5 N-(4-(5-cloro-2-metoxifenil)-2-(2-hidroxi-2-metilpropil)tiazol-5-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida;
 N-(4-(5-cloro-2-metoxifenil)-2-(2-metilprop-1-enil)tiazol-5-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida;
 N-(2-bromo-4-(5-cloro-2-metoxifenil)tiazol-5-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida;
 N-(4-(5-cloro-2-metoxifenil)tiazol-5-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida;
 N-(4-(5-cloro-2-metoxifenil)-2-metiltiazol-5-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida;
 10 N-(4-(5-cloro-2-metoxifenil)-2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)tiazol-5-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida;

y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

2. Una composición farmacéutica, que comprende el compuesto de la reivindicación 1 y un excipiente, un adyuvante o un vehículo farmacéuticamente aceptables.

15 3. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 para su uso en medicina.

4. Una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la reivindicación 1 para su uso en la prevención, el tratamiento o la disminución de la gravedad de una enfermedad o una afección seleccionadas de accidente cerebrovascular, diabetes, hepatomegalia, enfermedad cardiovascular, fibrosis quística, enfermedad vírica,
 20 enfermedades autoinmunes, trastornos alérgicos, inflamación, trastornos neurológicos, una enfermedad relacionada con hormonas, afecciones asociadas a trasplante de órganos, trastornos de inmunodeficiencia, trastornos de destrucción ósea, trastornos proliferativos, enfermedades infecciosas, afecciones asociadas a muerte celular, agregación de plaquetas inducida por trombina, enfermedad hepática, afecciones inmunes patológicas que implican activación de linfocitos T, trastornos del SNC o un trastorno mieloproliferativo.

25 5. Un compuesto para su uso de acuerdo con la reivindicación 4, en donde la enfermedad o la afección se seleccionan de entre:

- cáncer;
 30 una enfermedad cardiovascular seleccionada de entre reestenosis, cardiomegalia, aterosclerosis, infarto de miocardio o insuficiencia cardíaca congestiva;
 un trastorno neurológico que es una enfermedad neurodegenerativa seleccionada de entre enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica, enfermedad de Huntington e isquemia cerebral;
 35 inflamación, que es una enfermedad inflamatoria seleccionada de entre enfermedad intestinal inflamatoria, artritis reumatoide, psoriasis, dermatitis de contacto o reacciones de hipersensibilidad retrasadas;
 una enfermedad autoinmune seleccionada de entre lupus o esclerosis múltiple, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, colitis colagenosa, colitis linfocítica, colitis isquémica, colitis por derivación, síndrome de Behçet, colitis infecciosa y colitis indeterminada; y
 40 psoriasis.

6. El compuesto para su uso de acuerdo con la reivindicación 3, para su uso en la prevención, el tratamiento o la disminución de la gravedad de una enfermedad o una afección seleccionadas de entre cáncer, policitemia vera, trombocitosis esencial, mielofibrosis, leucemia mielógena crónica (LMC), artritis reumatoide, síndrome inflamatorio
 45 intestinal, enfermedad de Crohn, psoriasis, dermatitis de contacto o reacciones de hipersensibilidad retrasadas.